

Die Auswirkung der Reproduktion auf das Immunsystem weiblicher Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*)



Manuela Jäckel
Lehrstuhl für Verhaltensforschung
Universität Bielefeld
Fakultät für Biologie

Januar2003

Kapitel 1

Einleitung

Die „life-history theory“ geht davon aus, daß das Verhalten eines Tieres dahingehend selektiert wird, den Reproduktionserfolg zu maximieren (Williams, 1966). Der derzeitige Reproduktionsaufwand eines Individuums kann, wenn er eine Triversche Investition darstellt, jedoch negative Konsequenzen für die Fitness eines Tieres haben, etwa durch eine reduzierte Lebenserwartung und verringerten zukünftigen Reproduktionserfolg (Trivers, 1972). Eine Steigerung des Reproduktionsaufwandes hat eine Erhöhung der derzeitigen Fortpflanzungsleistung zur Folge, kann sich aber negativ auf das zukünftige Überleben oder die Fertilität eines Tieres auswirken. Die Selektion sollte die Allokation von Ressourcen von Tieren dahingehend optimieren, daß über die Lebenszeit eines Tieres hinweg die Fitness, und damit auch der Fortpflanzungserfolg, maximiert wird (McFarland, 1985; Stearns, 1989).

Die „demographic theory of optimal reproductive tactics“ (Williams 1966) geht von einer Begrenzung der Ressourcen für alle Individuen aus. Sind die Nahrungsressourcen limitiert, muss das Tier die zur Verfügung stehende Energie auf verschiedene physiologische Körperfunktionen aufteilen. Die Limitierung der Ressourcen kann durch exogene Faktoren, wie zum Beispiel Nahrungsknappheit oder die Begrenzung spezieller Ressourcen wie Proteine, essentielle Aminosäuren oder Fettsäuren und Vitamine (Lochmiller et al., 2000) bedingt sein, aber auch endogene Faktoren wie begrenzte Aufnahmekapazität der vorhandenen Ressourcen, das Volumen des Verdauungsapparates, die Geschwindigkeit der Stoffaufnahme aus dem Darm oder andere physiologische Prozessen können zu einer Limitierung der Stoffaufnahme führen (Kirkwood 1983).

In Situationen mit erhöhtem Energiebedarf wie zum Beispiel unter Streß, bei Wachstum oder Reproduktion muss eine Allokation der Energie, auf die verschiedenen physiologischen Funktionen erfolgen (Weiner 1992). Diese lassen sich in Selbsterhalt, Wachstum und Reproduktion aufteilen. Eine Erhöhung der Energieausgabe in einem dieser Bereiche muss, sofern sie nicht durch eine gesteigerte Energieaufnahme

ausgeglichen werden kann (Tuomi, 1983), eine Einsparung an anderer Stelle nach sich ziehen (Gordon, 1982). Es entsteht also ein „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Reproduktion und anderen physiologisch wichtigen Prozessen. Eine Steigerung der Investition von Energie in die Reproduktion bedeutet eine Zunahme der gegenwärtigen Fortpflanzungsleistung, damit jedoch eine Reduktion der Energie für somatische Investitionen. Die somatischen Investitionen beinhalten Investitionen von speziellen Stoffen und Energie in unterschiedliche physiologische Prozesse. Dazu gehören die Funktionen des Wachstums, wie der Aufbau von neuem Gewebe, und die Funktionen des Selbsterhalts, wie zum Beispiel die Regeneration von Gewebe und die Aufrechterhaltung des Immunsystems.

Das Immunsystem ist ein wichtiger Teil des Komplexes Selbsterhalt (Wedekind, 1994). Dazu gehören Zellen und Gewebe, deren physiologische Hauptaufgabe darin besteht das Eindringen infektiöser Mikroorganismen wie Viren oder Bakterien abzuwehren. Die Abwehrfunktionen sind in zwei große Bereiche unterteilt: die natürliche und die erworbene Immunität. Die Prozesse der natürlichen Immunität bilden die Grundlage für die Abwehr von Mikroorganismen, die in den Organismus eindringen. Nach dieser primären Immunantwort erfolgt die spezifische Abwehrreaktion der erworbenen Immunität. Hierbei reagieren T- und B- Lymphozyten auf den eingedrungenen Erreger. Diese Zellsysteme können hochspezifisch auf den jeweiligen Erreger, bzw. das eingedrungene Antigen reagieren. Ist nur eine Komponente des Immunsystems nicht funktionsfähig, bedeutet dies eine Gefahr für das Überleben des Individuums und damit eine Reduktion des Fortpflanzungserfolges. Das Individuum wird anfällig für bakterielle und virale Infektionen, die nicht nur zum Tod des Tieres, sondern beim trächtigen Weibchen auch zum Abbruch der Tragzeit (Engels et al, 1983; Owen et al, 1999) führen können.

Den negativen Effekt der Reproduktion auf das Immunsystem von Vögeln zeigen verschiedene Studien. Deerenberg et al. (1997) zeigen negative Auswirkungen während der Aufzucht einer Brut auf das Immunsystem bei brütenden Zebrafinken (*Taeniopygia guttata*). Während der Brutphasen sind die Tiere zum Teil nicht mehr in der Lage, eine Immunantwort gegen ein injiziertes Antigen (Sheep red blood cells, SRBC) zu bilden. Diejenigen Vögel, die auch während der Aufzucht ihrer Jungvögel in der Lage sind Antikörper zu bilden, generieren nur eine signifikant geringere Immunantwort als nicht reproduzierende Vögel. Die Stärke der Immunantwort nimmt mit zunehmender Brutgröße ab. Die Autoren finden einen ähnlichen negativen Effekt auf das Immunsystem bei nicht brütenden Vögeln, die sich ihr Futter erarbeiten mussten. Bei diesen Tieren fiel die Immunantwort signifikant geringer aus als bei nicht arbeitenden und nicht brütenden Vögeln. Die verminderte Immunantwort bei brütenden und bei arbeitenden Vögeln erklären die Autoren mit mangelnder Energieverfügbarkeit für die Aufrechterhaltung des Immunsystems, da die für das

Immunsystem vorgesehene Energie in Brut oder Arbeit investiert wird.

Das ein hoher Energieumsatz zu einer Herabsetzung des Immunsystems führen kann, konnte auch bei Säugern gezeigt werden. Mäuse, die über längere Zeit hinweg einer körperlichen Anstrengung unterlagen (schwimmen), zeigten eine verringerte Abwehr gegenüber einem Virus (Coxsackie B Virus, Gatmanitan et al, 1970). Die Mortalität der Tiere, die der Anstrengung unterlagen, stieg von 5% auf 50%. Die Virusreplikation im Herzen der Tiere stieg ebenfalls deutlich an.

Affen, die während der Inkubationsphase einer Poliomyelitis körperlich trainiert wurden, zeigten eine stärkere Infektion als nicht trainierende Affen (Levinson et al, 1945). Bei Menschen gibt es ähnliche Befunde. Hochleistungssportler erkranken signifikant häufiger an Virus- und anderen Infektionen als nicht extensiv Sport betreibende Kontrollpersonen (Weinstein et al., 1973; Morse et al, 1972; Baron et al, 1982).

Während der Reproduktionsphasen kann die Reduktion der Immunkompetenz zu einer erhöhten Anfälligkeit der Eltern gegenüber Parasiten führen. Diese kann eine Konsequenz der erhöhten Exposition von Parasiten aber auch einer Reduktion immunologischer Verteidigungsmechanismen gegen diese Parasiten sein. Ein höhere Parasitenlast während der Reproduktionsphasen konnte bisher bei Vögeln und Säugetieren gezeigt werden. Apanius (1991) zeigt eine negative Korrelation zwischen Blutparasiten und Leukozytenzahlen und spezifischen Antikörpern bei weiblichen Turmfalken (*Falco sparverius*) während der Brutperiode. Norris et al (1994) zeigen eine signifikant höhere Anfälligkeit für Parasiten (*Haematozoa spec.*) bei brütenden Kohlmeisen, wobei die Anfälligkeit der Männchen mit zunehmender Brutgröße bzw. zunehmendem paternalen Aufwand steigt. Ebenso zeigen Richner et al. (1995) eine Zunahme an Malariainfektionen (*Plasmodium spec.*) von Kohlmeisen (*Parus major*) während der Brutperiode, wobei auch hier die Infektionsrate bei Männchen mit zunehmender Brutgröße zunimmt. Die Anfälligkeit von Fliegenschnäppern (*Ficedula hypoleuca*) gegen *Trypanosoma* und *Haemoproteus spec.* steigt bei Männchen und Weibchen dieser Spezies während der Brutsaison und steigt bei beiden Geschlechtern mit zunehmender Brutgröße an (Siikamäki et al, 1997).

Die oben beschriebenen Befunde zeigen, daß Individuen dieser Arten in einer Phase mit erhöhtem elterlichen Aufwand, und damit auch erhöhtem energetischen Aufwand, schlechter in der Lage sind Parasiten abzuwehren.

Bei Säugern gibt es bisher diesbezüglich nur wenige Befunde. Festa-Bianchet (1989) zeigt jedoch, daß laktierende weibliche Dickhornschafe (*Ovis canadensis*) einen höheren Anteil an Parasiten (Lungenwürmer) im Kot aufweisen als nicht laktierende Tiere. Dabei leiden Mütter mit männlichen Jungtieren unter stärkerem Befall als Mütter von Weibchen. Weibchen müssen weniger Energie in die Produktion einer Tochter als in die Produktion eines Sohnes investieren. Das weist darauf hin, daß weibliche

Dickhornschaft eine Ressourcen- Allokation zugunsten der Reproduktion, aber auf Kosten der Parasiten-Abwehr durchführen. Bei Ratten wurde gezeigt, daß laktierende Weibchen weniger in der Lage sind eine Infektion mit Parasiten (*Nippostrongylus brasiliensis*) abzuwehren (Connan, 1973).

Die Reproduktion stellt für jedes Individuum, jedoch besonders für weibliche Säugetiere, einen energetisch sehr aufwendigen Prozess im Lebenslauf dar. In dieser Arbeit soll überprüft werden, ob und in welcher Weise und Intensität sich Tragzeit und Laktation auf die Immunantwort auswirken. Es soll überprüft werden, ob die Energieallokation zugunsten der Reproduktion einen negativen Einfluß auf das Immunsystem trächtiger oder laktierende Weibchen hat. Als Versuchstier dient dabei das Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*).

Weibliche Hausmeerschweinchen produzieren während der Tragzeit nahezu 40% des eigenen Gewichts an Jungtiermasse. Während der Tragzeit von etwa 68 Tagen produzieren sie im Mittel 3-4 Jungtiere (Raffel, 1992). Die Tiere gehören zu den extremen Nestflüchtern (Kunkel et al, 1964). Bei der Geburt sind die Augen der Jungtiere bereits geöffnet, das Fell ist voll ausgebildet und schon kurz nach der Geburt sind sie lokomotorisch aktiv. Bereits wenige Stunden nach der Geburt beginnen die Jungen zusätzlich zur Muttermilch mit der Aufnahme von Festfutter (Kunkel et al, 1964). Die lange Tragzeit ist dabei möglicherweise eine Anpassung an die gegebenen Umweltbedingungen (Weir, 1973; Short, 1985), die den täglichen Energieumsatz der trächtigen Weibchen reduziert. Beim Meerschweinchen ist gezeigt, das die Energiefestlegung in die Jungtiere während der Tragzeit effizienter ist als während der Laktation. Daher führt eine lange Tragzeit relativ zur gesamten Reproduktionsphase zu einer besseren Effizienz der Reproduktion (Glazier, 1990; Künkele, 2000a).

Um weit entwickelte Jungtiere zu produzieren, muss die Mutter sowohl in der Tragzeit als auch in der anschließenden Laktationsphase (23 Tage; Kunkel et al, 1964; Stern et al, 1970; Fullerton, 1974) sehr viel Energie in die Jungtiere investieren. Während der Tragzeit steigt die Nahrungsaufnahme der Weibchen im Vergleich zu nicht reproduzierenden Tieren um ca. 16% (Künkele, 2000b), während der Laktation um 92% an. Die Energieaufnahme der trächtigen Weibchen beträgt während der Tragzeit etwa des 2,4 fache des Basalstoffwechsels und ist damit im Vergleich zu einer nicht reproduzierenden Lebensphase deutlich erhöht. Im Gegensatz dazu ist die tägliche Energieaufnahme eines laktierenden Weibchens um das 3,7fache des Basalstoffwechsels erhöht (Künkele, 2000b). Die Laktation stellt für das Meerschweinchen, wie auch für ander Säugetiere, die energetisch aufwendigste Phase der Reproduktion dar (Loudon et al, 1987; Byers et al, 1990, Hammond et al, 1992; Rogowitz et al, 1995). In der Laktation produzieren die Mütter für große Würfe etwa ihr eigenes Körpergewicht an Milch (Hille, 1993). Schon zu Beginn der Laktation ist der Energiebedarf der Meerschweinchen Mütter relativ hoch (ca. 50% über dem Ener-

giebedarf eines nicht reproduzierenden Weibchens) und erreicht seinen Höchstwert bereits in der ersten Hälfte der Laktationsphase. Danach nimmt der Energiebedarf und somit auch die Nahrungsaufnahme bis zum Ende der Laktation kontinuierlich ab (Künkele und Trillmich, 1997).

Sind die Ressourcen der Weibchen und damit die Energie limitiert, unterliegt das Tier dem oben beschriebenen Allokationsproblem. Unter Nahrungsrestriktion wird dieses Problem noch verstärkt. Die Reaktion auf eine Nahrungsrestriktion ist dabei variabel. Restriktion kann in frühen Entwicklungsphasen zu einer Verzögerung (Bronson, 1989; Asdell, 1964) oder Unterdrückung der Geschlechtsreife (Bronson, 1984; Perrigo et al, 1985) führen, später dann den Ovulationszyklus beeinflussen (Bronson, 1989). Während der Reproduktionsphasen kann eine Restriktion zur Mobilisierung mütterlicher Fettreserven (Leon et al, 1983; Millar, 1975) oder zur Resorption oder Abortion (Perrigo et al, 1985; Zamiri, 1978) der Foeten führen. Die Nahrungsreduktion kann ebenfalls zur Verringerung der Wurfgröße und reduziertem Wachstum der Jungtiere (Boxwell, 1995; Leon et al, 1983; Smith 1991), zur früheren (Smith 1991) oder späteren (Gomendio, 1995) Entwöhnung der Jungtiere (Lee et al., 1991; Laurien- Kehnen, 2002) und sogar zum Infantizid führen (Millar, 1975; Perrigo, 1990; Rivers et al, 1974).

Beim Hausmeerschweinchen besteht nach Mills et al. (1971) eine positive Korrelation zwischen Wachstumsrate und dem Alter bei Erreichen der Geschlechtsreife. Dieses konnte bei den institutseigenen Tieren jedoch nicht festgestellt werden (Laurien-Kehnen, 2002). Ist ein Tier restriktiert, wirkt sich das auf sein Gewicht bzw. Wachstum, und damit auf den Zeitpunkt der Geschlechtsreife aus. Hierbei konnte gezeigt werden, daß kleinere und leichtere Weibchen eine verringerte Fertilität aufweisen. Sie produzieren weniger und leichtere Jungtiere als größere Weibchen (Laurien-Kehnen, 2002). Unter Restriktion der Mutter verlängert sich die Laktation beim Hausmeerschweinchen um ca. 8 Tage (Laurien-Kehnen, 2002).

Beim Hausmeerschweinchen beeinträchtigt die Reproduktion das skeletale Wachstum und das Wachstum des fettfreien Körpers der Mütter nicht. Das Geburtsgewicht, die Wachstumsrate und die Fettreserven der Jungtiere von restriktierten Weibchen sind jedoch geringer als bei Jungtieren ad libitum gefütterter Mütter (Raffel et al, 1996). Restriktierte Weibchen erhalten das eigene Wachstum und die Anzahl der Jungtiere. Der Reproduktionserfolg wird jedoch bezüglich der Kondition der Jungtiere (Geburtsgewicht, Wachstum) reduziert (Wagner, 1996; Raffel, 1997). Restriktierte Mütter erhöhen den täglichen Brutpflegeaufwand für ihre Jungtiere nicht. Die Mütter erhalten damit ihren eigenen Fortpflanzungswert aufrecht, was allerdings zu Lasten des Fortpflanzungswertes der Jungtiere geht (Laurien- Kehnen, 2002).

Aufgrund der großen Menge an Energie und speziellen Ressourcen wie Proteinen, Amino- und Fettsäuren oder Vitaminen (Lochmiller et al, 2000), die das Hausmeerschweinchen während Tragzeit und Laktation in seine Nachkommen investiert, eignet es sich besonders gut für die Untersuchung des Trade-off zwischen Reproduktion und anderen physiologischen Prozessen des Selbsterhalts, wie dem Immunsystem.

In der vorliegenden Arbeit soll zunächst überprüft werden, ob sich die Immunantwort reproduzierender Hausmeerschweinchen-Weibchen von der Immunantwort nicht reproduzierender Weibchen unterscheidet. Wenn die hohen Investitionen der Tiere in die Produktion und Aufzucht der Jungtiere während der Tragzeit und Laktation diese zu einer Allokationsentscheidung zugunsten der Reproduktion zwingt, so ist es möglich, daß sich diese Entscheidung negativ auf das Immunsystem der Mütter auswirkt. In diesem Fall wäre während der Reproduktionsphase eine schwächere oder keine Immunantwort gegen ein Antigen zu erwarten.

Da in Tragzeit und Laktation unterschiedliche Mengen an Energie umgesetzt werden, also die Energieallokation möglicherweise anders ausfällt, soll weiterhin überprüft werden, ob sich die Immunantwort abhängig vom Zeitpunkt der Immunisierung in der Reproduktionsphase (Tragzeit und Laktation) unterscheidet.

Um die verfügbaren Ressourcen bzw. die Energie zu begrenzen, werden Tiere unter zwei verschiedenen Futterkonditionen untersucht (ad libitum und restriktiert). Bei einer künstlichen Verknappung der verfügbaren Energie durch eine Nahrungsrestriktion sollten die Tiere einer stärkeren Allokationsproblematik unterliegen. Wirkt sich diese auf die generierte Immunantwort, bzw. auf die Fähigkeit eine Immunantwort auszubilden aus, so sollte diese bei restriktierten Tieren geringer ausfallen, als bei Tieren, die unter ad libitum Bedingungen gehalten werden.

Kapitel 2

Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelt es sich um Hausmeerschweinchen *Cavia porcellus* aus der Zucht der Universität Bielefeld (Lehrstuhl für Verhaltensforschung).

Die Tiere haben ein kurzes, glattes mehrfarbiges Fell. Anhand der Fellfärbung ist jedes Tier individuell identifizierbar. Der Farbcode der Tiere wurde zu Versuchsbeginn protokolliert. Anschließend wurde jedem Tier eine individuelle Nummer in der Form (Versuchsansatz - Nr. der Versuchsbox) zugeordnet.

2.1.1 Haltung

Die Weibchen für die unterschiedlichen Versuchsreihen stammten von multiparen Zuchtweibchen aus der Verhaltensforschung Bielefeld ab. Im Alter von 50 Tagen bei reproduzierenden Versuchsgruppen, bzw. 100 Tagen (siehe Tabelle 2.2.1) bei nicht reproduzierenden Gruppen, gingen sie in eine der in Abschnitt 2.2.1 beschriebenen Versuchsreihen ein. Die Tiere wurden in Klimakammern mit 23°C Tages- und 20°C Nachttemperatur in einer Lichtperiode von 14 Stunden gehalten. Die folgende Abbildung zeigt den Aufbau der Versuchsboxen (ca. 80 x 40 cm), in dem die Tiere ab dem 35. Tag der Tragzeit bzw. dem 100. Lebenstag der Weibchen untergebracht wurden.

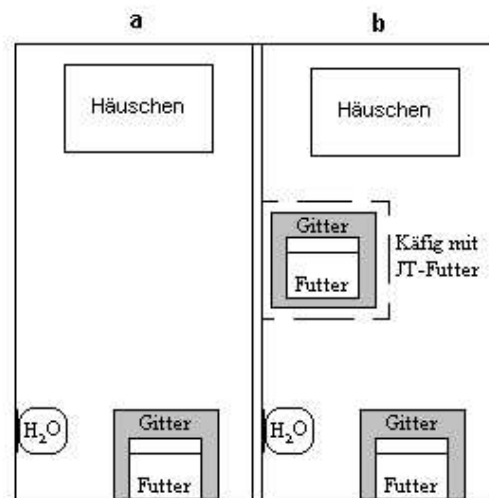


Abbildung 2.1.1: Aufbau der Versuchsboxen; a: Aufbau für Weibchen ohne Jungtiere; b: Aufbau für Weibchen mit Jungtieren, das Futter der Muttertiere ist für die Jungtiere (JT) nicht zugänglich, da es ca. 15cm über dem Boden angebracht ist. Mütter können das JT- Futter nicht erreichen, da es durch einen Drahtkäfig geschützt ist, durch dessen kleine Öffnungen nur die Jungtiere zum Futter gelangen können.

Allen Tieren der Versuchs- und Kontrollansätze stand Wasser *ad libitum* zur Verfügung, welches einmal pro Woche mit einem Vitamin-C Zusatz versehen wurde. Als Futter stand den Tieren Pelletfutter der Firma Höveler (Langenfeld, Deutschland) in unterschiedlichen Mengen zur Verfügung. Die Versuche wurden unter zwei Futterkonditionen durchgeführt.

Kondition 1: *ad libitum*

Den Tieren, denen laut Tabelle 2.2.1 Futter *ad libitum* zur Verfügung stand, wurde pro Tag 100g Pelletfutter eingewogen. Der Nahrungsverbrauch der Tiere wurde bestimmt, indem täglich (nach 24 h), das Restfutter ausgewogen und der Verbrauch errechnet wurde. Das Restfutter befand sich entweder im Futterspender oder unter dem darunter liegenden Gitter. Von den Tieren wurde kein Futter in der Haltungsbbox ausgetragen.

Kondition 2: *Restriktion*

Die Tiere, denen laut Tabelle 2.2.1 Futter nur begrenzt zur Verfügung stand, erhielten pro Tag 90 Prozent des Nahrungsbedarfs eines Weibchens mit gleichem Gewicht

und im gleichen Reproduktionsstatus (gleicher Tag der Tragzeit/ Laktation/ keine Reproduktion). Diese massenspezifischen Werte wurden aus Daten von zuvor aufgenommenen Messwerten von Dr. Joachim Künkele (unveröffentlichte Daten) und aus eigenen Vorversuchen errechnet. Die den Tieren zugewiesene Futtermenge wurde täglich in den Futterspender eingewogen. Im Futterspender verblieb zumeist kein Restfutter. Nur während der ersten zwei Tage der Restriktion, also in der Eingewöhnungsphase, blieb bei den restriktierten Tieren teilweise Futter im Spender zurück. Diese Tage gehen nicht in die Auswertung ein.

Jungtiere

Allen Jungtieren stand Futter *ad libitum* zur Verfügung. Täglich wurden 100g Pelletfutter in den Futterspender für Jungtiere ein- bzw. das Restfutter ausgewogen und verworfen.

2.2 Versuchsdurchführung

2.2.1 Versuchsaufbau

Alle für diese Studie verwendeten Hausmeerschweinchen-Weibchen wurden in fünf Versuchstier- Kategorien eingeordnet. Die Versuche der Kategorien wurden unter zwei Futterkonditionen durchgeführt (ad libitum und restriktiert). Die Tiere wurden den einzelnen Versuchsgruppen zufällig zugeordnet.

Datenaufnahme

Die Versuche wurden in mehreren Versuchsansätzen durchgeführt (siehe Tabelle 2.2.1). In jedem Ansatz wurden Tiere aus mehreren Versuchsgruppen untersucht. Das bedeutet, Versuchs- und Kontrollreihen (siehe Tabelle 2.1) wurden parallel durchgeführt. Die Datenaufnahme begann im März 2000 und endete im Oktober 2002 (siehe Tabelle 2.2.2). In der Zeit von Oktober 1999 bis März 2000 wurden Vorversuche durchgeführt, in denen die Dosierung des Antigens erprobt wurde. Die Vorversuche sind in Absatz 2.2.3 beschrieben. Zwischen den einzelnen Versuchsansätzen wurden die gesammelten Blutproben analysiert und ausgewertet.

Tabelle 2.2.1: Versuchsreihen (Tr.: Tragzeit; Lak.: Laktation; ad lib.: ad libitum; restr.: restriktiert). Die Bezeichnung der Reihen setzt sich aus Reproduktionsstatus (r: Tragzeit; lak: Laktation; nr: nicht reproduzierend), der Immunisierung (i: immunisiert; ni: nicht immunisiert) und der Futterkondition (a: ad libitum; r: restriktiert) zusammen. Zahlen in Klammern geben die Stichprobengröße an, bei der alle Parameter gemessen wurden (In Ansatz 1 wurden keine Leukozytenzahlen gemessen, kein Diff. Blutbild erstellt und das Futter der Jungtiere wurde nicht aufgenommen.)

Nr	Kategorie	Bezeichnung	Repro- duktion	Immuni- sierung	Tag der Immunisierung	Futter- kondition	N
1.	Versuch I	r i a	+	+	Tag 40 Tr.	Ad lib.	16(8)
2.	Versuch I	r i r	+	+	Tag 40 Tr.	Restr.	10
3.	Versuch II	lak i a	+	+	Tag 1 Lak.	Ad lib.	10
4.	Versuch II	lak i r	+	+	Tag 1 Lak.	Restr.	10
5.	Kontrolle I	r ni a	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Ad lib.	18(8)
6.	Kontrolle I	r ni r	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Restr.	10
7.	Kontrolle II	nr i a	-	+	107. LT	Ad lib.	8
8.	Kontrolle II	nr i r	-	+	107. LT	Restr.	8
9.	Kontrolle III	nr ni a	-	-	NaCl 107. LT	Ad lib.	8
10.	Kontrolle III	nr ni r	-	-	NaCl 107. LT	Restr.	8

Tabelle 2.2.2: Versuchsansätze. In der Spalte Reihen sind die in diesem Ansatz jeweils untersuchten Reihen angegeben.

Ansatz	Beginn	Ende	Reihen
1	März 2000	Juli 2000	r i a, r ni a
2	Oktober 2000	März 2001	r i a, r i r, r ni a, r ni r, nr i a, nr i r
3	Juni 2001	November 2001	r i a, r i r, r ni a, r ni r, nr i a, nr i r nr ni a, nr ni r
4	Oktober 2001	März 2002	r i r, r ni r, nr i a, nr i r nr ni a, nr ni r, lak i a, lak i r
5	Juni 2002	Oktober 2002	r i r, r ni r, nr i a, nr i r nr ni a, nr ni r, lak i a, lak i r

Versuch I.: Reproduzierende Weibchen, Immunisierung während der Tragzeit

Je zwei Weibchen der Versuchsgruppe wurden im Alter von 50 Tagen mit einem nicht verwandten adulten Männchen verpaart. Zu diesem Zeitpunkt wurde den Weibchen eine erste Blutprobe entnommen und wie in Abschnitt 2.2.2 beschrieben weiterverarbeitet. Zwischen dem 50. und 70. Lebensstag der Tiere wurde im Abstand von zwei

Tagen bei allen Weibchen die Öffnung der Vaginalmembran (VM) kontrolliert um den Beginn der Tragzeit festlegen zu können. Der erste Tag der letzten feststellbaren VM-Öffnung wird als erster Tag der Tragzeit definiert. An Tag 30 der nun folgenden Tragzeit wurde das Männchen aus der Box entfernt und die zwei Versuchsweibchen wurden durch den Einsatz einer Gitterwand voneinander getrennt (Abbildung 2.1.1). An Tag 35 wurde mit der Messung der Nahrungsaufnahme begonnen. Waren die Weibchen restriktiert, begann die Restriktion an Tag 35. Zusätzlich wurde täglich das Gewicht der Weibchen aufgenommen. An Tag 40 der Tragzeit wurden die Tiere zum ersten Mal mit KLH immunisiert (Abschnitt 2.2.3), das ihnen subkutan in den Nacken injiziert wurde und es wurde ebenfalls eine Blutprobe entnommen. Sieben Tage später wurde die sekundäre Immunisierung durchgeführt und eine weitere Blutprobe entnommen. Pro Blutprobe wurden den Tieren etwa 500 μ l Blut entnommen. Weitere Blutproben folgten im wöchentlichen Abstand bis zur Entwöhnung der Jungtiere (25. Lebenstag der Jungtiere), wobei in der Woche der Geburt (Tag 68) keine Blutprobe genommen wurde. Den Versuchsablauf verdeutlicht Abbildung 2.2.1. Zusätzlich zu den Blutproben der Weibchen wurde allen Jungtieren am siebten und am 60. Lebenstag eine Blutprobe entnommen, bei der Leukozytenzahl, Antikörpertiter und differentielles Blutbild bestimmt wurde.

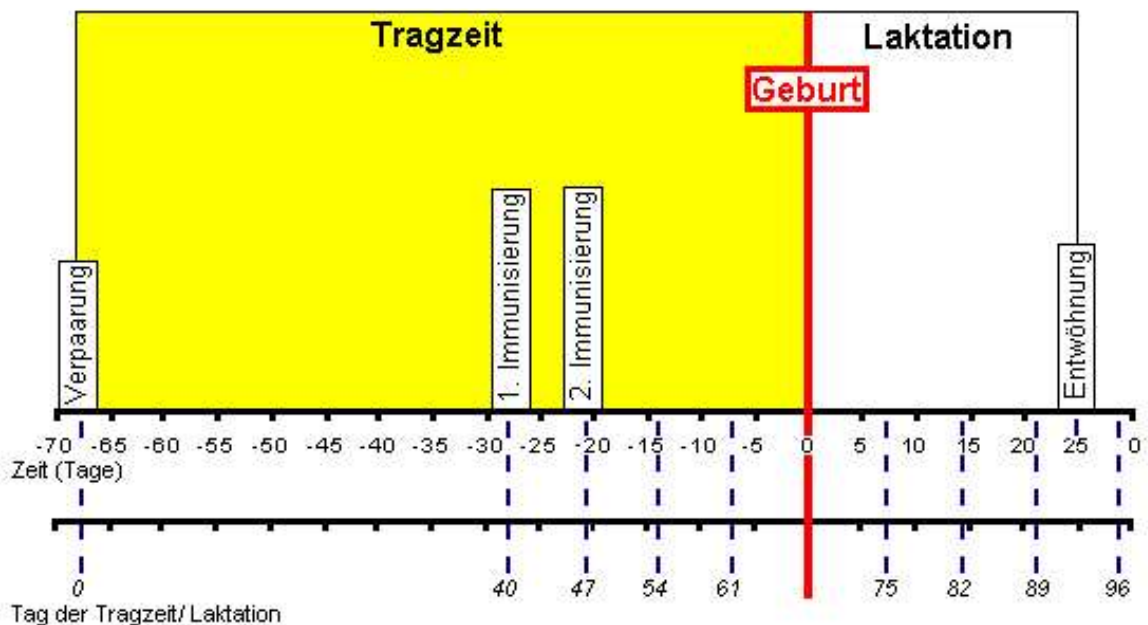


Abbildung 2.2.1: Versuchsablauf Kategorie Versuch I; unterbrochene Linien markieren jeweils die entnommenen Blutproben.

Versuch II.: Reproduzierende Weibchen, Immunisierung während der Laktation

Die Behandlung der Tiere dieser Versuchsgruppe erfolgte nach dem gleichen Schema wie zuvor (Versuch I.) beschrieben, mit Ausnahme der folgenden Änderungen: Die Messung der Nahrungsaufnahme wurde erst sieben Tage vor dem errechneten Wurftermin begonnen. Die Restriktion startete am Tag der Geburt der Jungtiere. Am Tag der Geburt der Jungtiere, bzw. am Tag danach, wurde den Weibchen eine Blutprobe entnommen und es erfolgte die erste Immunisierung, wie in Abschnitt 2.2.3 beschrieben. Die zweite Immunisierung und Blutabnahme erfolgt sieben Tage später. Danach wurden wöchentlich, bis zur Entwöhnung der Jungtiere (25. Lebens- tag) weitere Blutproben entnommen. Aus allen Blutproben wurde die Leukozytenzahl ermittelt, das differentielle Blutbild erstellt und der Antikörpertiter ermittelt. Der Versuchsablauf ist in Abb. 2.2.2 dargestellt. Zusätzlich zu den Blutproben der Weibchen wurde allen Jungtieren am siebten Lebenstag eine Blutprobe entnommen, aus der Leukozytenzahl, Antikörpertiter und differentielles Blutbild bestimmt wurden.

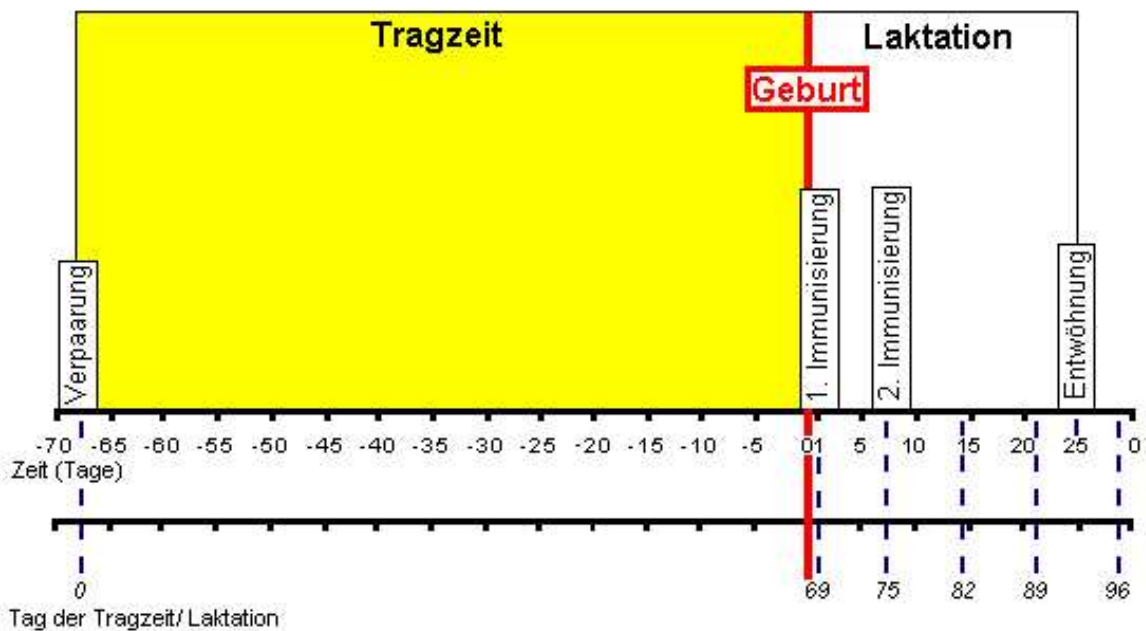


Abbildung 2.2.2: Versuchsablauf Kategorie Versuch II; gestrichelte Linien markieren jeweils die entnommenen Blutproben.

Kontrolle I.: Reproduzierende Weibchen, nicht immunisiert

Als erste Kontrolle wurden zusätzlich Versuche mit nicht immunisierten Weibchen durchgeführt. Der Versuchsablauf entspricht dem der reproduzierenden immunisierten Weibchen, mit dem Unterschied, daß den Weibchen anstatt der KLH- Injektion zwei mal je 400 μ l einer isotonischen Kochsalzlösung (0,9 prozentige NaCl- Lösung) injiziert wurde, die kein Antigen enthielt.

Kontrolle II.: Nicht reproduzierende Weibchen, immunisiert am 107. Lebenstag

Um den Einfluß der Reproduktion auf das Immunsystem der Weibchen untersuchen zu können, mussten zusätzlich zu den Versuchstieren auch nicht reproduzierende Weibchen untersucht werden.

Den zur Gruppe der nicht reproduzierenden Weibchen gehörenden Tieren wurden im Alter von 50 Tagen eine erste Blutprobe entnommen. Im Alter von 100 Tagen wurden die Tiere in die Versuchsboxen (Abbildung 2.1.1) eingesetzt und eine weitere Blutprobe entnommen. In diesem Alter begann auch die Messung des Nahrungsverbrauchs der Tiere. Sieben Tage später (entspricht Versuchstag 7) wurden die Tiere zum ersten Mal immunisiert (Priming) und es wurde eine weitere Blutprobe entnommen. Die sekundäre Immunisierung erfolgte sieben Tage später, ebenso die nächste Blutprobe. Weitere Blutproben wurden wöchentlich bis zu Versuchstag 63 genommen (9 Proben bzw. Wochen). Bei allen Blutproben wurde, wie auch bei den reproduzierenden Versuchstieren, das Blutbild sowie Antikörpergehalt im Serum bestimmt und eine Leukozytenzählung durchgeführt. Der Versuchsablauf wird in Abbildung 2.2.3 dargestellt.

Kontrolle III.: Nicht reproduzierende Weibchen, nicht immunisiert

Zur Kontrolle der Auswirkung der Immunisierung auf die nicht reproduzierenden Weibchen, wurden nicht reproduzierende Weibchen, die nicht immunisiert wurden untersucht. Diese erhielten statt des Antigens zwei Injektionen von je 400 μ l einer isotonischen Kochsalzlösung (0,9 prozentige NaCl- Lösung). Der Versuchsablauf entspricht dem der Kontrolle II (Abbildung 2.2.3).

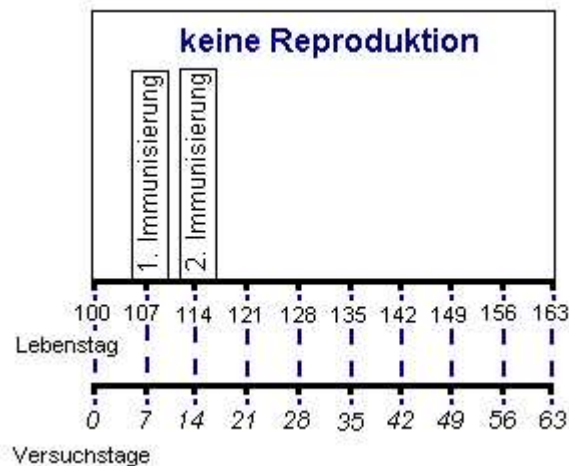


Abbildung 2.2.3: Versuchsablauf Kategorie Kontrolle II; gestrichelte Linien markieren jeweils die entnommenen Blutproben.

2.2.2 Blutentnahme

Jedem Tier wurden im Laufe der Versuche mehrere Blutproben entnommen. Zur Vorbereitung der Blutentnahme wurde ein Styroporbehälter mit Eis gefüllt, um das entnommene Frischblut zu kühlen. In das Eis wurde für jede Blutprobe ein Eppendorf-Gefäß gesteckt. Pro Tier wurden drei Objektträger mit Mattrand und einen Objektträger ohne Rand bereitgelegt. Die Objektträger mit Mattrand wurden mit der laufenden Nr., der Tier/Boxnummer, dem Datum und Versuchstag beschriftet. Je eine 50 μ l-Pipette und 10 μ l-Pipette wurden mit einer Pipettenspitze bestückt. Pro Tier wurde ein Eppendorf-Gefäß mit 190 μ l Tuerkscher Lösung gefüllt (Leukozytenzählung). Zum Einstechen der Ohrvene wurde eine Kanüle (21G, steril) bereitgelegt.

Nachdem diese Vorbereitungen abgeschlossen waren, wurde das Tier aus der Box geholt. Zur Blutabnahme wurde das Tier in der Halterung fixiert (Abbildung 2.2.4A). Dazu wurde es in die Halterung gesetzt, der Autoschlauch (4) wird über das Tier gedeckt und an einem Nagel (3) festgeklemmt. Das Ohr des Tieres wurde aus dem Loch im Schlauch gezogen. So saß das Tier ruhig und es war möglich aus der Ohrvene eine Blutprobe zu nehmen.

Um auch den sieben Tage alten Jungtieren Blut abnehmen zu können, wurden diese in eine Kindersocke (b) mit einem Loch für das Ohr des Tieres (d) gesteckt, und mit Hilfe von Klebeband (c) über der Socke auf der Arbeitsfläche (a) fixiert (Abb.2.2.4B).

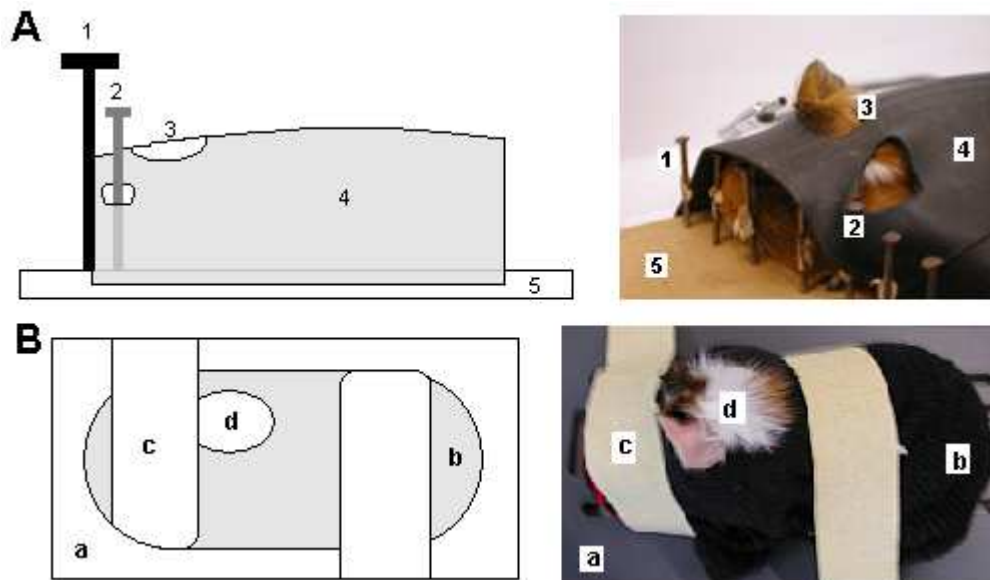


Abbildung 2.2.4: Aufbau der Halterung zur Blutentnahme; A: Adulte: 1:Gitter; 2:Nagel zur Befestigung des Autoschlauchs; 3:Loch für das Ohr des Tieres 4:Autoschlauch; 5:Holzbrett; B: Jungtiere a: Abrbeitsfläche; b:Socke; c:Klebeband; d:Loch für das Ohr des Tieres

In beiden Aufbauten zur Blutentnahme wurde das rechte Ohr des Tieres durch das Loch in der Halterung (Abbildung 2.2.4) gezogen. Mit der bereitgelegten Kanüle wurde schräg von oben eine der Ohrvenen angestochen. Anschließend wurde solange gewartet, bis ein Tropfen Blut auf dem Ohr stand. Zehn Mikroliter Blut werden in das Eppendorf-Gefäß mit 190 μ l Tuerckscher Lösung gefüllt. Der nächste Blutropfen wurde mit Hilfe einer Pipette mit neuer Spitze auf die 3 Objektträger aufgeteilt und mit dem Objektträger ohne Rand ausgestrichen. Pro Tier wurden jeweils 3 Ausstriche angefertigt.

Weitere Blutropfen wurden mit der Pipette in ein Eppendorf-Gefäß überführt, welches verschlossen und mit laufender Nr. beschriftet wurde. Pro Blutprobe wurde den adulten Tieren etwa 500 μ l, den Jungtieren etwa 200 μ l Blut entnommen. Wenn die Blutung während der Entnahme stoppte, wurde das Ohr mit Papiertuch in Richtung des Einstichs abgerieben und an der Basis massiert. Zum Stoppen der Blutung nach der Blutentnahme wurde die Ohrvene mit Papier abgedrückt oder mit blutstillendem Schwamm behandelt. Nach der Blutentnahme wurde das Tier zurück in seine Box gesetzt.

Serumgewinnung

Das während der Blutentnahme in einem Eppendorf- Gefäß gesammelte Frischblut wurde für mindestens eine Stunde in den Kühlschrank gestellt (ca. 4 °C). Danach wurde die Probe bei 13.000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert. Das Serum wurde in ein Eppendorf- Gefäß transferiert, welches zunächst mit der Probennummer beschriftet und dann bei ca. -20 °C eingefroren wurde.

2.2.3 Immunisierung mit *Keyhole Limpet Hemocyanin*

Bei *Keyhole Limpet Hemocyanin* (KLH) handelt es sich um den Blutfarbstoff einer marinen Napfschnecke (*Megathura crenulata*). Die Fähigkeit das Immunsystem zu aktivieren wurde bereits um 1970 beschrieben (Curtis et al. 1970, 1971; Herscowitz et al. 1972; Weigele 1964). KLH wurde verwendet um die humorale und zelluläre Immunantwort bei Menschen zu messen (Swanson et al. 1967). Die biochemische Struktur und Eigenschaften von KLH zeigen Harris et al. (1999).

Bei dem Antigen KLH konnte sicher davon ausgegangen werden, daß zuvor keine Exposition der Versuchstiere stattgefunden hatte. Darüber hinaus handelt es sich dabei um eine verträgliche Substanz, die keine Anzeichen einer Befindlichkeitsbeeinträchtigung der Tiere hervorruft, aber dennoch zu einer gut meßbaren Antikörperbildung führte. Die Reaktion der Tiere auf das Antigen wurde in Vorversuchen getestet. Dazu wurden jeweils zwei Tiere mit 2x50µg KLH(primäre und sekundäre Immunisierung), 2x100µg KLH und 2x200µg KLH immunisiert. In der anschließenden Auswertung der in den folgenden vier Wochen gesammelten Blutproben, zeigten nur diejenigen Tiere, die 2x200µg KLH erhalten hatten eine zuverlässig messbare Immunantwort gegen das injizierte Antigen.

Für die hier beschriebenen Experimente wurde *soluble hemocyanin from keyhole limpets* (Sigma, Product No. H7017) verwendet, das mit 2 ml deionisiertem Wasser aufbereitet wurde. Die Stammlösung (10mg/ml) wurde in Eppendorf- Gefäßen in Einheiten von je 100µl eingefroren (-20°C).

Den Versuchstieren und den Tieren der Kontrolle I. wurde an den Versuchstagen in zwei aufeinanderfolgenden Wochen jeweils 400µl einer Mischung aus 100µl Stammlösung KLH und 3,9ml einer 0,9 prozentigen NaCl- Lösung injiziert. Diese Menge entsprach insgesamt 400µg KLH pro Versuchstier (Priming und sekundäre Immunisierung). Den Tieren der Kontrollgruppen I und III wurde statt der KLH-Lösung die zwei mal jeweils 400µl isotonische Kochsalzlösung ohne die Zugabe von KLH-Stammlösung injiziert.

2.2.4 Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA)

Die Bestimmung der Konzentration spezifischer Antikörper gegen KLH erfolgte mit Hilfe eines *Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay* (ELISA). Bei dieser Analyse handelt es sich um einen nicht kompetitiven Test, bei dem die Menge des gegen das spezifische Antigen (KLH) gerichteten Antikörpers bestimmt wird. Bei diesem Antikörper handelt es sich um Immunglobuline der Klasse G (IgG). In dieser Studie wird ein Sandwich- bzw. indirekter Assay verwendet. Eine Mikrotiterplatte wird dabei mit dem eingesetzten Antigen beschichtet. Wird die Probe aufgetragen, bindet der in der Probe enthaltene Antikörper an das Antigen. An diesen Komplex bindet anschließend ein Detektor Antikörper, an den ein Phosphatase-Konjugat bindet. Dieser Komplex erzeugt eine Gelbfärbung der Proben auf der Mikrotiterplatte. Die Extinktion dieser Farbe kann photometrisch gemessen werden. Die gemessene Extinktion ist proportional zu dem Titer der Antikörper in der zu untersuchenden Probe. Das Schema des Sandwich ELISA ist in Abbildung 2.2.5 dargestellt.

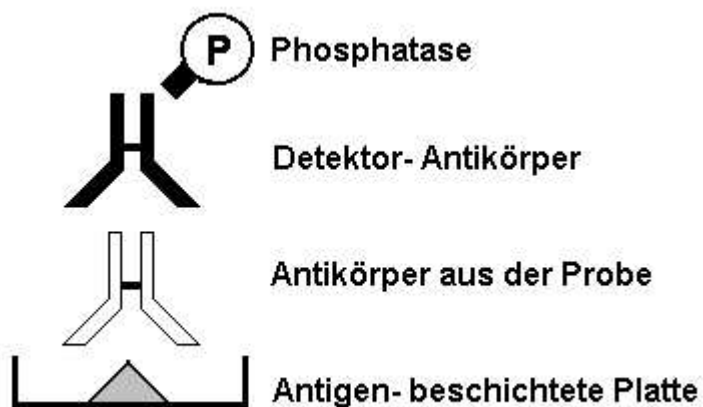


Abbildung 2.2.5: Reaktionsreihe des ELISA

Koppeln der ELISA- Platten mit KLH

Zum Koppeln der Mikrotiterplatten (Linbro E.I.A.II Plus Microtitration plate, ICN Biomedicals Prod. Nr. 76-181-04)) wird die KLH-Stammlösung 1:1000 verdünnt. Dazu werden 100 μ l KLH - Stammlösung mit 9,9ml Kopplungspuffer (1,59g Na_2CO_3 + 2,9g NaHCO_3 + 0,2g NaN_3 in 1l aqua dest.) vermischt. Von dieser Lösung werden pro Well der Titerplatte 200 μ l pipettiert. Die Platten wurden anschließend für 24 Stunden bei 4 °C mit Kunststoffolie (Linbro Plate Sealer, ICN Biomedicals Prod. Nr. 7740005) abgedeckt inkubiert und dann drei mal mit Waschpuffer (8g NaCl + 0,2g KH_2PO_4 + 1,4g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ + 0,2g KCl + 0,2g NaN_3 + 0,5ml Tween 20 in 1l aqua dest.) gewaschen und mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe getrocknet.

Die Platten konnten dann bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit Kunststoffolie abgedeckt gelagert werden.

Testdurchführung ELISA

Die zuvor gekoppelten Platten und die zu analysierenden Serenproben werden nach Bedarf aufgetaut. Pro Mikrotiterplatte werden 24 Proben aufgetragen (Abbildung 2.2.6). Es werden jeweils zwei identische Platten angelegt (Doppelbestimmung). Die Analyse des Antikörper-Titers erfolgt mittels ELISA nach dem im folgenden beschriebenen Schema. Auf jeder Platte waren immer positive Proben aus den Reihen r i a, r i r, nr i a und nr i r (Tabelle 2.2.1) als auch negative Proben der Reihen r ni a, r ni r, nr ni a und nr ni r enthalten. Auf den Platten mit denen die Proben der Reihen lak i a und lak i r analysiert wurden, wurden jeweils auch Proben aus den positiven (während der Tragzeit immunisierte und immunisierte nicht reproduzierende Tiere) und negativen Reihen (nicht immunisierte Tiere). Damit kann eine Fehlanalyse ausgeschlossen werden. Zusätzlich wurden zur Kontrolle positiv und negativ getestete Proben wiederholt auf verschiedenen Platten gemessen. Die gemessenen Werte aus den einzelnen Analysen zeigten eine Abweichung von maximal 8%.

1. Verdünnung der Serenproben: Die zuvor aufgetauten Proben werden 1:100, 1:2000, 1:4000 und 1:8000 verdünnt. Dazu werden zunächst $10\mu\text{l}$ Serum in $990\mu\text{l}$ Waschpuffer verdünnt (1:100) und vermischt. $50\mu\text{l}$ dieser Lösung werden in $950\mu\text{l}$ Waschpuffer übertragen und vermischt (1:2000). Aus dieser Lösung werden $500\mu\text{l}$ in $500\mu\text{l}$ Waschpuffer übertragen und vermischt (1:4000). Dieser Schritt wird noch einmal wiederholt (1:8000).
2. Bovine Serum Albumin (BSA; Albumin bovine fraction V, Serva prod. Nr. 11930) 1:10 in Waschpuffer lösen (1g BSA + 9g Waschpuffer).
3. Die Mikrotiterplatte wird mit $200\mu\text{l}$ /Well BSA (1:10 in Waschpuffer verdünnt) bestückt und eine Stunde bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgedeckt mit Kunststoffolie inkubiert (Heraeus Instruments, Kelvitron t).
4. Die Platte wird anschließend drei mal mit Waschpuffer gewaschen und getrocknet. Dazu werden jeweils $200\mu\text{l}$ Waschpuffer pro Well pipettiert und anschließend ausgegossen. Dieser Vorgang wird drei mal wiederholt. Danach werden die 96 Wells der Mikrotiterplatte vorsichtig mit einer Wasserstrahlpumpe ausgesaugt (Pipettenspitze darf nicht den Boden der Wells berühren) und dadurch getrocknet.

5. Jeweils ($200\mu\text{l}$ /Well) der 1: 2000, 1:4000 und 1:8000 verdünnten Proben werden nach dem in Abbildung 2.2.6 Schema auf die Mikrotiterplatte pipettiert. Zusätzlich wird Waschpuffer als Leerwert pipettiert.

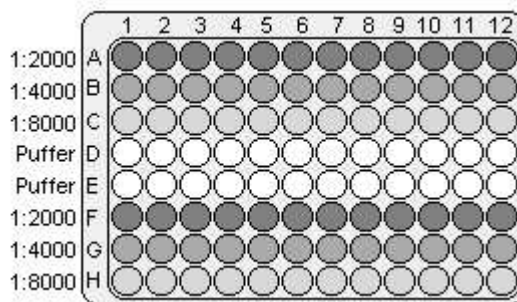


Abbildung 2.2.6: Bestückung der Mikrotiterplatte. Auf jeder Platte werden 24 Serienproben (A1-A12 und F1-12) in jeweils drei Verdünnungsstufen (A-C und F-H) aufgetragen; in den Reihen D und E wird nur Puffer (Leerwert) pipettiert.

6. Die Platte wird anschließend für eine Stunde bei 37°C mit Kunststoffolie abgedeckt inkubiert.
7. Zu den Proben werden jeweils $50\mu\text{l}$ /Well BSA (1:10) zugeben.
8. Anschließend wird die Platte für eine Stunde bei 37°C mit Kunststoffolie abgedeckt inkubiert.
9. Die Proben werden aus der Platte gegossen und verworfen. Anschließend werden die Platten drei mal wie oben beschrieben gewaschen und getrocknet.
10. Ein gegen Meerschweinchen IgG ausgerichteter Antikörper (AKP Conjugated goat Anti Guinea pig IgG, Southern Biotechnology Associates, Prod. Nr. 6090-04) wird 1:2000 in Waschpuffer verdünnt.
11. Pro Well werden je $200\mu\text{l}$ der Antikörperlösung auf die Platten pipettiert.
12. Die Platte werden für weitere zwei Stunden bei 37°C inkubiert (mit Kunststoffolie abgedeckt).
13. Die Antikörperlösung wird anschließend verworfen und die Platte wird drei mal gewaschen und getrocknet.
14. Das Phosphatase Substrat (104 Phosphatase-Substrate, Sigma, Prod. Nr. 104-0) wird im Verhältnis von 2,5 mg Substrat pro ml Enzympuffer ($1,59\text{g Na}_2\text{CO}_3 + 2,9\text{g NaHCO}_3 + 0,2\text{g NaN}_3 + 120\text{ mg MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 1l aqua dest.) verdünnt.

15. Das gelöste Phosphatase Substrat wird auf die Platte pipettiert (200 μ l/Well).
16. Die Platte wird dann für fünf Minuten dunkel bei Raumtemperatur ohne Kunststoffolie inkubiert.
17. Zuletzt erfolgt die photometrische Messung der optischen Dichte bei 405 nm (Spectra Flour Plus, Tecan; Software XFlour4)

2.2.5 Leukozytenzählung

Eine Bestimmung der Gesamtzahl der Leukozyten erfolgte bei jeder Blutabnahme. Dazu wurden jeweils 10 μ l Frischblut in 190 μ l Tuerksche Lösung in ein Eppendorf-Gefäß pipettiert und vermischt. Von dieser Mischung wurden wiederum 10 μ l in eine Neubauer- Zählkammer pipettiert, deren Deckglas zuvor fest aufgesetzt wurde. Nach einer Wartezeit von ca. 3 Minuten werden die Leukozyten unter dem Mikroskop (160-fache Vergrößerung) ausgezählt. Die Gesamtzahl der Leukozyten wird in einer Liste, auf der zuvor die Nummer des Tieres (Box) und das Datum notiert wurde, vermerkt.

2.2.6 Differentielles Blutbild

Die während der Blutentnahme angefertigten Vollblutausstriche wurden zum Trocknen auf die Trockenbank gestellt. Nach einer Stunde wurden sie mit der Unterseite kurz über die Flamme eines Bunsenbrenners gezogen um die Zellen zu fixieren.

Färbung der Ausstriche

Die getrockneten Ausstriche wurden mit einer Kombination aus Giemsa- und May-Grünwald-Lösung gefärbt (Romeis 1989). Dazu wurden sie zunächst für fünf Minuten in eine May-Grünwald-Lösung getaucht. Anschließend wurden sie mit aqua dest. abgewaschen (Spritzflasche) und für weitere fünf Minuten in aqua dest. gewässert. Danach folgte eine zweite Färbung für 15 Minuten in Giemsa-Lösung. Zuletzt wurden die Ausstriche ein weiteres Mal mit aqua dest. gewaschen und luftgetrocknet.

Auswertung am Mikroskop

Bei 1000facher Vergrößerung wurden die gefärbten Ausstriche unter dem Mikroskop ausgewertet. Dazu wurden in einem auswertbaren Ausstrich pro Tier und Blutpro-

be jeweils 100 Leukozyten ausgezählt und der prozentuale Anteil an neutrophilen, basophilen und eosinophilen Granulozyten, sowie Lymphozyten und Monozyten bestimmt. Bei der Auszählung wurde der Objektträger mäanderförmig abgefahren. Anschließend wurde der prozentuale Anteil der Leukozyten-Subpopulationen an den Gesamt-Leukozyten ausgerechnet.

Kapitel 3

Ergebnisse

3.1 Das Blutbild des Hausmeerschweinchens

3.1.1 Einleitung

Das Blutbild ist eines der wichtigsten Diagnose-Hilfsmittel, um schnell einen ersten Eindruck vom Gesundheitszustand eines Organismus zu erhalten. Daher benötigt man aussagefähige Basisdaten. Diese Daten sollten sowohl alters- als auch geschlechtsspezifisch aufgeschlüsselt sein, um Abweichungen von den Normalwerten erkennen zu können. Dabei ist es wichtig sowohl Mittelwerte als auch die Streuung der Parameter in einer Population gesunder Individuen zu charakterisieren. Zu einem Blutbild gehören Parameter wie Leukozyten- und Erythrozytenzahlen, Hämatokrit, Hämoglobin und natürlich das differentielle weiße Blutbild der Tiere.

Es gibt eine Vielzahl von Studien am Hausmeerschweinchen, die sich mit den Komponenten des Blutbildes des Meerschweinchens befassen (1904-1989, siehe Tab.3.1.1). In vielen dieser Studien fehlen aber Informationen über Geschlecht, Alter, Kondition und Reproduktionsstatus der Tiere, die jedoch die verschiedenen Blutparameter beeinflussen können.

Für den Menschen ist bekannt, daß die Leukozytenzahl mit zunehmenden Alter sinkt, und daß sich Hämatokrit- und Hämoglobinwerte zwischen den Geschlechtern unterscheiden (Theml,1991). Chen (1991) zeigt signifikante Unterschiede bezüglich der Hämoglobinwerte zwischen Männern und Frauen chinesischer Abstammung. Der Hämatokrit sinkt mit zunehmendem Alter und unterscheidet sich zwischen den Geschlechtern. Bei Jugendlichen konnte gezeigt werden, daß die Anzahl an Leukozyten mit dem Alter der Versuchspersonen positiv korrelieren (Bartlett et al 1998). Zusätzlich wird in dieser Studie deutlich, daß der Anteil an T-Zellen bei männlichen Jugendlichen prozentual geringer ist als bei weiblichen Jugendlichen, der Anteil an

B-Zellen bei männlichen Jugendlichen jedoch signifikant höher ist. Robel und Lochmiller (1996) zeigen altersbedingte Unterschiede im differentiellen weißen Blutbild bei Baumwollratten (*Sigmodon hispidus*). Neutrophile Granulozyten stellen bei adulten Ratten einen höheren Anteil, Lymphozyten einen geringeren Anteil am weißen Blutbild als bei jungen Ratten dar.

Um zu klären, ob derartige Unterschiede auch beim Hausmeerschweinchen bestehen, werden im folgenden zunächst die bisher veröffentlichten Studien über das Blutbild der Hausmeerschweinchen betrachtet (Burnett 1904, Wintrobe 1933, King et al. 1941, Sawitsky et al. 1948, Innes et al. 1949, Ederstrom 1949, Roofe et al. 1950, Bilbey et al. 1955, Constable 1960, Constable 1963, Zawisza-Zenkteler 1963, Ostwald et al. 1964, Moffatt et al. 1964, Zemmann et al. 1965, Chan 1965a, Chan 1965b, Burns et al. 1966, Griffiths et al. 1969, Baumann et al. 1971, Baranski 1971, Sibley et al. 1979, Bar-Ilan et al. 1980, Hawkey 1989a). Daten aus diesen Studien über Hämatokrit, Hämoglobin, Erythrozyten- und Leukozytenzahlen sowie das differentielle Blutbild der Tiere werden zusammengestellt und verglichen. In diesem Vergleich werden auch tierspezifische Daten wie Alter, Geschlecht, sowie Kondition und Reproduktionsstatus der Tiere berücksichtigt.

Aufgrund des Fehlens verschiedener Informationen in den bisher veröffentlichten Studien über das Blutbild des Hausmeerschweinchens bezüglich Kondition, Geschlecht oder Alter der Tiere, erwiesen sich die Literaturdaten als unzureichend. Daher war es notwendig, eigene Daten von Tieren in unterschiedlichen Altersstufen, Reproduktionsstadien und Geschlecht aufzunehmen. Um Normalwerte für die unterschiedlichen Tiergruppen zu erheben, wurden Blutproben von jeweils 10 Männchen und Weibchen in unterschiedlichen Altersgruppen (3-10 Tage, 30-40 Tage, 50-100 Tage) analysiert. In den Gruppen m.3-10 und w.3-10 (siehe Tabelle 3.1.3) sind die Tiere noch juvenil. Im Alter von 30-40 Tagen sind die Weibchen im Gegensatz zu den Männchen bereits geschlechtsreif (Weir 1974). Ab einem Alter von etwa 50 Tagen gelten alle Tiere als adult (Weir 1974). Zusätzlich werden Daten von Weibchen in verschiedenen Reproduktionsstadien (Tag 40 der Tragzeit, Tag 7 der Laktation) ausgewertet. Die Daten aus den verschiedenen Klassen von Meerschweinchen werden untereinander sowie mit den Literaturdaten verglichen.

3.1.2 Daten aus der Literatur

Im folgenden werden Literaturdaten aus 23 Publikationen verglichen, die zwischen 1904 und 1989 publiziert wurden. Eine Liste von Publikationen wurden mit Hilfe des Science Citation Index, ausgehend von aktuellen Publikationen (Hawkey 1989 und Wagner et al. 1976) erstellt. Zusätzlich wurde der Science Citation Index von 2002

an rückwärts bis 1989 nach den Schlagwörtern „guinea pig“ und „Cavia“, in Verbindung mit den Suchworten „blood“ und den einzelnen untersuchten Komponenten (hematocrit, hemoglobine) und Zelltypen (erythrocytes, leucocytes, lymphocytes, granulocytes, monocytes) durchsucht.

Tabelle 3.1.1 und Tabelle 3.1.2 zeigen die Daten aus den gefundenen Publikationen. Autoren und Publikationsdaten sind in Fußnote 1 zusammengefasst. In diesem Literaturvergleich sind nur solche Studien enthalten, die das periphere Blut des Hausmeerschweinchens untersuchen. Daten aus Knochenmarksuntersuchungen gehen nicht mit ein (Chan, 1965; Chan, 1968; Dineen et al., 1970; Lucarelli et al., 1968; Moffatt et al., 1964; Moffatt, et al., 1964b; Osmond et al., 1964; Osmond et al., 1965; Sawitsky et al., 1948). Wurden die Tiere in den einzelnen Studien manipuliert, sind nur Daten aus Kontrollgruppen genannt. In einigen Studien wurden die Daten in Einheiten erfasst, welche nicht mit anderen Arbeiten vergleichbar sind. Diese Daten gehen nicht mit ein, sind in den Tabellen 3.1.1 und 3.1.2 jedoch durch (x) markiert. Werden zu einem Parameter keine Daten genannt, ist dies durch (-) gekennzeichnet.

Tabelle 3.1.1 zeigt Informationen zu Stichprobengröße (N), Geschlecht, Alter und Gewicht, den Ort der Blutentnahme und die Zuchtlinien der in den Publikationen untersuchten Tiere. Zusätzlich zeigt die Tabelle die Blutparameter Erythrozytenzahl, Hämatokrit, Hämoglobin und Leukozytenzahl.

Es fällt zunächst auf, daß in den meisten Studien nur männliche Hausmeerschweinchen untersucht worden sind. Es ist jedoch bei verschiedenen Spezies gezeigt worden, daß sich einige Blutparameter zwischen den Geschlechtern unterscheiden (Theml, 1991; Chen, 1991). Nur Ostwald und Koautoren (1964) trennen die Daten der Männchen von denen der Weibchen. Sind in anderen Studien Männchen und Weibchen untersucht, so werden die Daten zu einer Gruppe zusammengefasst (Sawitsky et al. 1948, Ederstrom 1949, Burns et al. 1966). Diese Zusammenfassung der Werte erklärt möglicherweise die sehr hohen Varianzen bei den gemessenen Werten.

Ebenfalls auffällig ist die sehr große Varianz bezüglich der miteinander korrelierten Parameter Größe und Gewicht. Sawitsky (1948) bezeichnet die von ihm untersuchten Tiere mit einem Gewicht von 268-640g als adult, Tiere mit ähnlichem Gewicht (225-290g) sind bei Ostwald (1964) jedoch als zwei bis drei Wochen alt angegeben. Eigene Daten zeigen bei einem Alter von 20-30 Tagen in Abhängigkeit von der Wurfgröße ein Gewicht von 200-300g (siehe 3.4). Dieses bestätigen auch Raffel et al. (1996).

Die in Tabelle 3.1.1 angegebenen Erythrozytenzahlen variieren um nahezu 50% des berechneten Mittels über alle Publikationen, Leukozytenzahlen um nahezu 100%. Diese extrem große Spannweite der Daten resultiert vermutlich aus den vielen verschiedenen Tiertypen (Alter, Geschlecht, Gewicht, Zuchtlinie), welche in die Publikationen eingehen. Beeinflussen Parameter wie Alter oder Geschlecht auch bei Meerschweinchen die gemessenen Blutwerte und werden diese Werte kombiniert, so ist es klar, daß bei den gemessenen Daten große Spannweiten entstehen.

Tabelle 3.1.2 zeigt die Werte des differentiellen weißen Blutbilds bei Hausmeerschweinchen. In Tabelle 3.1.2 sind nur die 13 Publikationen der 23 untersuchten dargestellt, die Werte zu mindestens einem Parameter des weißen Blutbilds angeben. Hier fällt ebenfalls die hohe Variabilität der dargestellten Daten auf. Die großen Unterschiede in den Werten resultieren möglicherweise, wie bereits beschrieben, aus der Zusammenfassung der Daten von Tieren in unterschiedlichen Konditionen (Alter, Gewicht, Zuchtlinie) oder unterschiedlichen Geschlechtern. Hinweise auf derartige Unterschiede sind aus den analysierten Publikationen allerdings nicht ersichtlich.

Tabelle 3.1.1: Angaben zum Blutbild aus der Literatur. Stichprobe (N), Konditions- und Blutparameter in der Literatur. (x: Literatur-Daten in nicht vergleichbarer Einheit (%); Dunk.-H.: Dunkin- Hartley; per.: peripher; abd.: abdominale Aorta; SD: Standardabweichung).

Zitat	Nr	N	Zucht- linie	Alter	Sex	Blut- probe	Gewicht (g)	Erythrozyten (10^6 Zellen/mm ³)	Hämatokrit (%)	Hämoglobin (g/100ml)	Leukozyten (Zellen/mm ³)
1	17	-	-	adult	-	Ohr	-	5,27	-	x	10897
2	-	-	-	-	m	per.	-	5,37	47,7	14,5	-
3	9	-	-	-	-	-	-	5,06	-	-	17365
4	47	-	-	adult	m+w	per	268-640	5,2	-	14,2	9460
5	48	-	-	-	-	per.	-	5,63	-	15,2	10600
6	20	-	-	-	m+w	per.	-	6,20	-	-	-
7	56	-	-	-	-	Ohr	-	6,27	-	-	7558
8	53	-	-	-	m	Ohr	300-570	3	-	x	9100
9	5	Albino	2 Monate	m	per.	300	300	4,98	34,72	13,34	-
	6	Albino	3 Monate	m	per.	500	500	5,52	34,05	14,41	-
10	105	Albino	Geburt	m	-	-	-	4,89	50	13,19	-
	105	Albino	2 Wochen	m	-	-	-	4,61	35	10,97	-
	105	Albino	adult	m	-	-	-	5,81	48	16	-
11	25	-	-	adult	-	per.	400	-	-	-	7687
12	5	-	-	2-3 Wochen	m	Herz	225-290	5,41	48	-	-
	5	-	-	2-3 Wochen	w	Herz	225-290	5,55	45	-	-
13	33	Dun.-H.	-	-	m	Ohr	400	4,18	-	x	-
14	54	Mongrel	-	-	m	Ohr	350-800	6,23	-	12,46	8032
15	8	-	-	-	-	Ohr	400	-	-	-	5853
16	10	Dun.-H.	-	-	m	Ohr	-	-	-	-	4090
17	151	Hartley, Albino	-	-	m+w	Herz	400-650	4,74	39,07	11,71	7650
18	26	Dun.-H.	-	-	m	per.	-	4,6	43	-	4800
	10	Bahndorf	-	-	m	per.	-	4,6	42	-	5500
19	10	-	-	-	m	Herz	-	-	42	14,4	-
20	100	-	-	-	-	-	-	4,98	-	-	10930
21	5	Dun.-H.	6-7 Wochen	m	abd.	390	390	-	-	-	6510
22	50	Hartley	adult	m+w	abd.	550-950	550-950	-	38,5	12,5	-
23	10	-	-	-	-	-	-	5	41,3	13	13300
								N	22	14	16
								Mittel	5,14	42,03	13,53
								Median	5,24	42	13,34
								(Min.-Max.)	(3-6,23)	(34,05-50)	(10,97-16)
								SD	0,74	5,29	1,42
											8674,50
											7859,5
											(4090-17365)
											3920,54

¹1.Burnett 1904, 2.Wintrobe 1933, 3.King et al. 1941, 4.Sawitsky et al. 1948, 5.Innes et al. 1949, 6.Ederstrom 1949, 7.Roofe et al. 1950, 8.Bilbey et al. 1955, 9.Constable 1960, 10.Constable 1963, 11.Zawisza-Zenkteler 1963, 12.Ostwald et al. 1964, 13.Moffatt et al. 1964, 14.Zemann et al. 1965, 15.Chan 1965a, 16.Chan 1965b, 17.Burns et al. 1966, 18.Griffiths et al. 1969, 19.Baumann et al. 1971, 20.Baranski 1971, 21.Sibley et al. 1979, 22.Bar-Ilan et al. 1980, 23.Hawkey 1989a.

Tabelle 3.1.2: Prozentualer Anteil der Subpopulationen an der Gesamtleukozytenzahl. Literatur, in der keine Angaben zum weißen Blutbild gemacht werden sind nicht in der Tabelle enthalten. (*: aus Daten in anderer Einheit errechnet; Gr.: Granulozyten)

Zitat Nr.	Eosinophile Gr. (%)	Basophile Gr. (%)	Neutrophile Gr. (%)	Monozyten (%)	Lymphozyten (%)
1	10,72	-	-	-	47,32
3	3,5	0,19	31,1	1,8	63,1
4	0,6	0,5	-	1,4	55,3
5	1,2	1,3	-	5,2	47,6
7	-	-	-	-	70,79
8	0,6	0,2	-	3,1	64
14	0,25	0,13	27,21	0,94	71,3
15	0,44*	0,12*	-	-	-
16	1,57*	0,15*	-	-	-
18	-	-	31,25*	-	64,58*
	-	-	32,73*	-	61,82*
20	-	-	-	-	49,5
21	1,08*	0,31*	48,23	-	-
23	0,1	0,5	55,2	9,2	35
N	10	9	6	6	11
Mittel	2,01	0,38	37,61	3,61	57,3
Median	0,84	0,2	31,99	2,45	62,91
(Min.-Max.)	(0,1-10,72)	(0,12-1,3)	(27,21-55,2)	(0,94-9,2)	(35-71,3)
SD	3,21	0,38	11,29	3,14	11,34

Kurloff Körper

Eine Besonderheit im Blut des Meerschweinchens stellen die sogenannten Kurloff Körper bzw. Zellen dar. Diese wurden zuerst von Kurloff 1889 und Foa et al 1889 erwähnt. Die Autoren beschreiben intrazytoplasmische Einschlüsse in lymphoiden Zellen in Blut, Knochenmark und Milz der Meerschweinchen. Die Kurloff Körper werden entweder als Sekrete des Zellkerns (Kurloff 1889; Ehrlich et al. 1901), eine Parasiteninfektion (*Lymphocytozoon cobayae*, Ross 1912; Clamydozoa, Schilling-Torgau et al. 1911) oder Einschlüsse ähnlich den Guarinery Körpern und Kuhpocken (Ledingham 1940) betrachtet. Acton et al. (1913) und Schilling et al. (1913) beschreiben die Kurloff Körper zwar, ordnen ihnen aber keine Funktion zu. Einen weiteren Erklärungsansatz für den Ursprung dieser Zellen zeigen Acton et al. (1914) auf. Hier wird die Kurloff Zelle als Vorläufer eines eosinophilen Granulozyten beschrieben. Sen et al. (1954) beschreiben die Kurloff Zelle als phagozytierten Granulozyten, der nicht dem intrazellulären Zerfall unterliegt. Simmons (1967) beschreibt diese Zellen als identisch in Herkunft und Funktion mit den Russel Körpern im menschlichen Blut. Herkunft und Funktion wird von Smith (1947) und Sen et al. (1955) zusammenfassend betrachtet. Eine gute Abbildung einer Zelle mit eingeschlossenem Kurloff Körper zeigt Hawkey (1989b).

Der Kurloff Körper wird als Einschluß in unterschiedlichen Leukozytentypen beschrieben. Kurloff (1889) beschreibt eine Vakuole innerhalb eines mononuklearen

Leukozyten. Frey (1937) und Duplan (1954) beschreiben einen Einschluß in einem Monozyten, wohingegen Ledingham (1940) Lymphozyten beschreibt, die Kurloff Körper aufweisen.

Ledingham (1940) zeigt darüber hinaus einen Anstieg von Zellen mit Kurloff Körpern mit zunehmendem Alter und besonders bei Weibchen während der Tragzeit und mit zunehmendem Östrogenspiegel. Ein Absinken der Zellen mit Kurloff Körpern zeigt sich nach Kastration. Marshall et al. (1971) bestätigen, daß eine Östrogen-Stimulation zu einer Zunahme an Kurloff Zellen in Milz, Thymus und Knochenmark führt.

Mit Hilfe histochemischer Methoden konnte gezeigt werden, daß der Kurloff Körper aus einem Mucoprotein- Schwefel- Mucopolysaccharid- Komplex besteht (Marshall et al. 1959; Muir et al. 1961). Dean und Muir (1970) identifizieren die Aminosäuren in diesem Komplex.

Bisher ist nur wenig über das Verhalten und die Funktion von Kurloff Körpern bekannt. Mit Hilfe von histochemischen und Radioisotop- Methoden zeigen Marschall et al. (1971) eine Freisetzung der Kurloff Körper aus den Zellen in die Plazenta. *In vitro* beschädigt und zerstört das freigesetzte Material Macrophagen, hat jedoch keinen Effekt auf Lymphozyten oder polymorphe Zellen. Die Freisetzung des Einschluß-Materials wird möglicherweise durch immunologische Stimuli (Antigene des Trophoblasten) bestimmt (Hellstrom et al. 1969). Möglicherweise reduziert die Freisetzung des Einschlußmaterials das Risiko des Trophoblasten, abgestoßen zu werden, da sich das Material negativ auf die Macrophagen in der Umgebung auswirkt (Hellstrom et al. 1969).

Die Kurloff Körper stellen also eine Besonderheit im Blut der Meerschweinchen dar. Sowohl ihre Herkunft als auch ihre Funktion sind bisher nicht ausreichend untersucht.

3.1.3 Eigene Daten

Um Normalwerte für die unterschiedlichen Tiergruppen aufzunehmen, werden im folgenden Blutproben von männlichen und weiblichen Hausmeerschweinchen in unterschiedlichen Altersgruppen (3-10 Tage, 30-40 Tage, 50-100 Tage) und Reproduktionsstadien (Tag 40 der Tragzeit, Tag 7 der Laktation) analysiert.

Methode

Bei den Versuchstieren handelte es sich um ausgekreuzte Hausmeerschweinchen *Cavia porcellus* aus der Zucht der Universität Bielefeld (Lehrstuhl für Verhaltensforschung). Mütter und ihre Jungtiere (Tiere der Gruppen m.3-10, w.3-10, w.Trag,

und w.Lak; Tabelle 3.1.3) wurden zusammen in einer Box ($0,81\text{m}^2$) gehalten. Junge Tiere im Alter von 30 bis 40 Tagen (Gruppen m.30-40 und w.30-40) wurden gemeinsam in Jungtiergruppen von etwa 10 Tieren nach Geschlechtern getrennt in einer Box (2m^2) gehalten. Adulte Männchen (Gruppe m.50-100) wurden gemeinsam mit drei ebenfalls adulten Männchen in Boxen mit einer Grundfläche von 3m^2 , adulte Weibchen (Gruppe w.50-100) jeweils mit einem anderen Weibchen auf einer Fläche von $0,81\text{m}^2$ gehalten. Alle Tiere waren in einer Photoperiode von 14 Stunden Licht und 10 Stunden Dunkel bei einer Raumtemperatur von $20\text{-}24^\circ\text{C}$ untergebracht. Den Tieren stand Pelletfutter (Höveler, Langenfeld, Germany) und Wasser unbegrenzt zur Verfügung. Wöchentlich wurde dem Trinkwasser Vitamin C zugesetzt. Tabelle 3.1.3 zeigt Alter, Geschlecht, Reproduktionsstatus und Stichprobengröße der untersuchten Tiergruppen.

Die Tiere sind innerhalb eines gemessenen Parameters nicht miteinander verwandt und jeweils nur in einer Versuchsgruppe enthalten. Die Tiere einer Gruppe sind also innerhalb eines Parameters unabhängig voneinander.

Tabelle 3.1.3: Untersuchte Tiere

	Gruppe	Geschlecht	Alter	Reproduktionsstatus	N
1	m.3-10	m	3-10 Tage	-	10
2	m.30-40	m	30-40 Tage	-	10
3	m.50-100	m	50-100 Tage	-	10
4	w.3-10	w	3-10 Tage	-	10
5	w.30-40	w	30-40 Tage	-	10
6	w.50-100	w	50-100 Tage	-	10
7	w.trag	w	80-100 Tage	Tag 40 der Tragzeit	10
8	w.lakt	w	80-100 Tage	Tag 7 der Laktation	10

Blutproben wurden den Tieren aus der Ohrvene entnommen. Um die Anzahl der Leukozyten zu bestimmen, wurden $10\mu\text{l}$ Blut mit $190\mu\text{l}$ Tuerkscher Lösung vermischt und in einer Neubauer-Zählkammer unter dem Mikroskop (Vergrößerung 100x) ausgezählt. Es wurden pro Tier zwei Proben ausgezählt, über die der Mittelwert gebildet wurde.

Um das differentielle weiße Blutbild zu erstellen, wurden Blutausstriche angefertigt und in einer Kombination aus May-Grünwald (5 Minuten) und Giemsa Lösung (15 Minuten) gefärbt. Die Ausstriche wurden unter dem Mikroskop bei 1000-facher Vergrößerung ausgewertet. Dabei wurden jeweils 100 Leukozyten den unterschiedlichen Subpopulationen (Lymphozyten, eosinophile, basophile und neutrophile Granulozyten, Monozyten) zugeordnet.

Um den Hämatokrit aus den Blutproben der Versuchstiere zu ermitteln, wurden

zwei Mikrokapillaren ($10\mu\text{l}$, heparinisiert) mit Blut befüllt und zentrifugiert (Compur Microspin, 11500 rpm, Bayer Diagnostics, Germany). Der Wert konnte dann auf einer Prozentskala abgelesen werden. Pro Tier wurden zwei Proben erstellt, über die der Mittelwert gebildet wurde.

Für die Messung der Erythrozytenzahl wurde eine Mikrokapillare ($5\mu\text{l}$, heparinisiert) mit Blut befüllt und in 2,5ml GOWERsche Lösung überführt (Instant M in vitro Diagnosticum für Erythrozyten, Bayer Diagnostic, Germany; Art.Nr.605822). Die Erythrozytenzahl wurde in einem Miniphotometer (Compur Minilab Bayer Diagnostics, Germany) ermittelt.

Die Daten aus diesem Photometer wurden mit Hilfe einer Zählkammer validiert. Dazu wurde die Erythrozytenzahl aus Blutproben von 12 Tieren (nicht in dieser Studie enthalten) sowohl im Photometer, als auch in der Zählkammer ausgewertet. Die Daten aus Photometer und Zählkammer unterschieden sich nicht signifikant voneinander (t-Test für gepaarte Stichproben, $N=12$, $t=-0,41$, $FG=11$, $p=0,6899$). Eine Korrelation der Daten aus Kammer und Photometer ergab eine hohe Korrelation der zwei Datengruppen (Pearson Korrelation, $N=12$, $r=0,77$, $p=0,0035$). Die Messwerte aus dem Photometer sind damit validiert und das Photometer kann in der Methodik zur Ermittlung der Erythrozytenzahl verwandt werden.

Eine weitere Mikrokapillare ($5\mu\text{l}$, heparinisiert) mit Blut wurde in 1,25ml Reagenzlösung überführt (Instant M in vitro Diagnosticum für Hämoglobin, Bayer Diagnostics, Germany; Art.Nr.7288/605749). Der Hämoglobinwert wurde ebenfalls mittels eines Miniphotometers (Compur Minilab Bayer Diagnostics, Germany) ermittelt.

Ergebnisse

Abbildung 3.1.1 zeigt Hämatokrit-, Hämoglobin- und Erythrozytenwerte der Versuchsgruppen. Abgebildet sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung. In allen drei Parametern gab es signifikante Unterschiede (Hk: ANOVA $F_{7,72}=31,49$ $p<0,001$; Hb: ANOVA $F_{7,72}=10,82$ $p<0,001$; Ery: ANOVA $F_{7,72}=8,82$ $p<0,001$). Die Werte aller drei Parameter bei jungen Männchen (m.3-10) und Weibchen (w.3-10) unterschieden sich signifikant von allen anderen Gruppen (HSD-posthoc Test $p<0,05$). Dabei unterschieden sich die Geschlechter in diesen Gruppen nicht signifikant voneinander (HSD-posthoc Test $p>0,05$). Die Werte für Hämatokrit, Hämoglobin und Erythrozyten variierten mit dem Alter, jedoch nicht geschlechtsspezifisch. Der Hämatokritwert (Abbildung 3.1.2) sank mit zunehmendem Alter signifikant ab

(ANOVA $F_{3,757}=17,31$ $p<0,001$). Hier wurden die Daten von Tieren im Alter von drei, sieben, zehn und vierzehn Tagen verglichen. Die Tiere waren nicht die gleichen wie die der Versuchsgruppen m.3-10 und w.3-10. In den einzelnen Altersstufen waren jeweils Männchen und Weibchen enthalten. Die Tiere sind jeweils nur in einer Altersgruppe enthalten. Bei den Werten handelt es sich nicht um wiederholte Messungen derselben Tiere.

Die Hämatokritwerte der drei Tage alten Tiere lagen signifikant höher als die aller älteren Gruppen (HSD posthoc test $p<0,01$). Der Unterschied machte im Vergleich zu den 7 Tage alten Tieren etwa 8%, zu den 10 und 14 Tage alten Tieren etwa 15% und 18% aus. Sieben Tage alte Tiere lagen niedriger als drei Tage alte Tiere (HSD posthoc test $p<0,01$), jedoch signifikant höher als 10 und 14 Tage alte Tiere (HSD posthoc test $p<0,01$). Der Unterschied betrug hier 6% bzw. 9%. Die Werte der beiden letzten Gruppen unterschieden sich nicht voneinander (HSD posthoc test $p>0,05$).

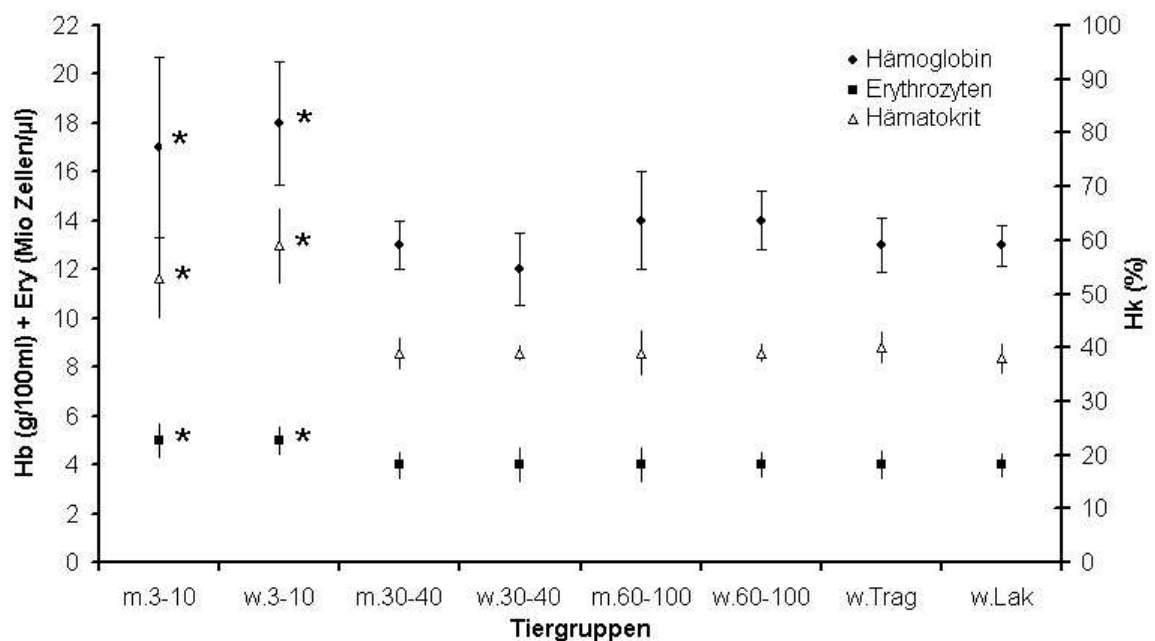


Abbildung 3.1.1: Hämatokrit- (Hk), Hämoglobin- (Hb) und Erythrozytenwerte (Ery) der Tiere in den Versuchsgruppen. Die Versuchsgruppen unterscheiden sich signifikant voneinander (Hk: ANOVA $F_{7,72}=31,49$ $p<0,001$; Hb: ANOVA $F_{7,72}=10,82$ $p<0,001$; Ery: ANOVA $F_{7,72}=8,82$ $p<0,001$). Die Jungtiergruppen (*) unterscheiden sich signifikant von allen anderen Gruppen (HSD posthoc test $p<0,05$), jedoch nicht untereinander (HSD posthoc test $p>0,05$).

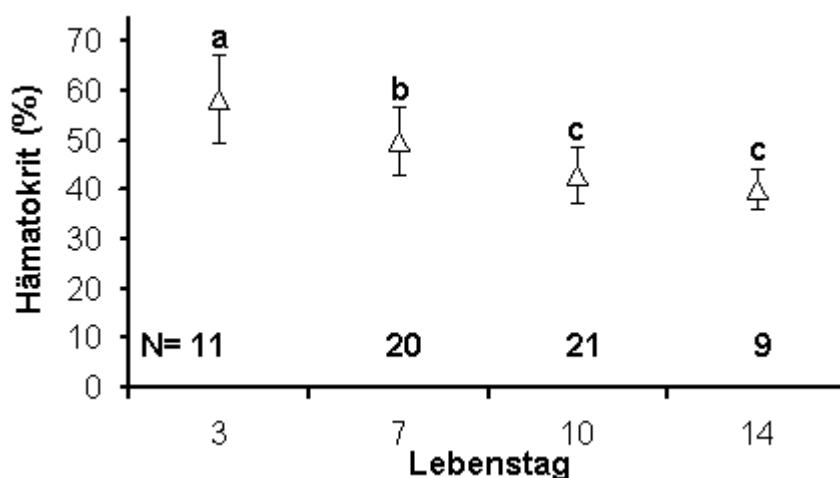


Abbildung 3.1.2: Hämatokrit in Abhängigkeit vom Lebensstag. Der Hämatokrit nimmt mit zunehmendem Alter signifikant ab (ANOVA $F_{3,757}=17,31$ $p<0,001$). Verschiedene Buchstaben bezeichnen signifikant voneinander verschiedene Werte

In Abbildung (3.1.3) zeigt sich, daß sich die Leukozytenzahlen zwischen den Gruppen nicht voneinander unterscheiden (ANOVA $F_{7,72}=1,70$ $p>0,1$). Auffällig war die hohe Standardabweichung als Folge der hohen Variabilität der Werte innerhalb der einzelnen Tiergruppen.

Betrachtet man die Subpopulationen der Leukozyten (Tabelle 3.1.2), also das differentielle Blutbild der Tiere, so fanden sich bezüglich der Anzahl der Monozyten (ANOVA $F_{7,72}=1,96$ $p>0,05$) und neutrophilen Granulozyten (ANOVA $F_{7,72}=0,36$ $p>0,05$) keine Unterschiede zwischen den untersuchten Tiergruppen. Die Lymphozytenzahlen variierten signifikant (ANOVA $F_{7,72}=2,24$ $p<0,05$), wobei sich im Post Hoc Test (Tukeys HSD Test; immer $p>0,05$) keine Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen ergaben. Das gleiche Ergebnis zeigte sich bei den eosinophilen Granulozyten (ANOVA $F_{7,72}=2,71$ $p<0,05$ und Tukeys HSD Test, immer $p>0,05$). Basophile Granulozyten kamen bei jungen Tieren (m.3-10 und w.3-10) signifikant häufiger vor als bei allen anderen Tiergruppen (ANOVA $F_{7,72}=3,21$ $p<0,01$ und Tukeys HSD Test, $p<0,05$). Der Anteil der Basophilen junger Männchen unterschied sich nicht von den Werten der jungen Weibchen (Tukeys HSD Test; $p>0,05$). Kurloff Zellen kamen bei trächtigen Weibchen signifikant häufiger vor als in allen anderen Gruppen (ANOVA $F_{7,72}=2,71$ $p<0,001$ und Tukeys HSD Test, $p<0,05$). Mittelwerte für die Subpopulationen der Leukozyten sind in Tabelle (3.1.4) aufgetragen.

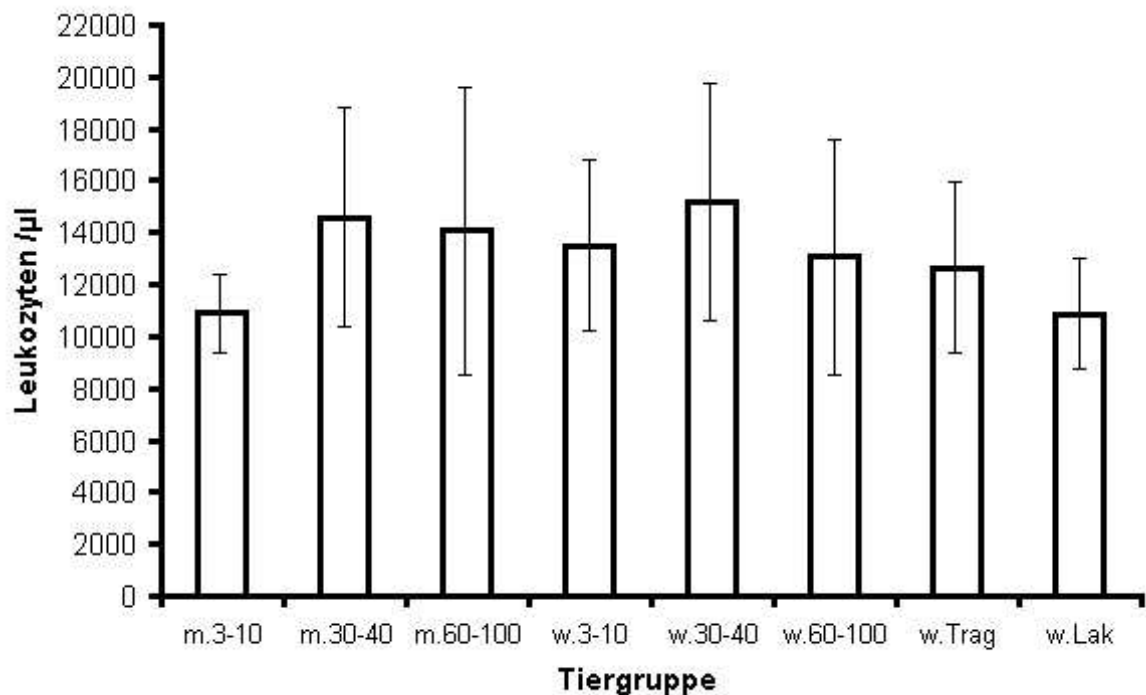


Abbildung 3.1.3: Leukozytenzahlen der Tiere in den Versuchsgruppen. Die Gruppen unterschieden sich statistisch nicht nachweisbar voneinander (ANOVA, $p > 0,05$).

Tabelle 3.1.4: Zellen des differentiellen Blutbildes. Der jeweilige Wert stellt den Anteil der Zelltypen an den Gesamt-Leukozyten dar (Mittelwerte, Angaben in % von jeweils 100 ausgezählten Leukozyten). (Lym: Lymphozyten; Mon: Monozyten; Eos: eosinophile Granulozyten; Bas: basophile Gr.; Neu: neutrophile Gr.; Kur: Kurloff Zellen; n.s.: nicht signifikant)

	m.3-10	m.30-40	m.60-100	w.3-10	w.30-40	w.60-100	w.Trag	w.Lak	p
Lym.	68,7	71,6	75,4	72,7	80,3	79,6	75,7	82,4	<0,05
Mon.	5,8	5,3	3,8	5,6	5,5	4,4	3,1	2,4	n.s.
Eos.	3,6	3,3	1,4	4,2	2,4	1,3	1,1	1,1	<0,05
Bas.	2,7*	0,1	0,7	1,6*	0,4	0,2	0,3	0,2	<0,01
Neu.	18,2	19,7	18,7	16	21,3	14,2	18,5	13,4	n.s.
Kur.	0	0	0,1	0	0	0,34	1,3*	0,5	<0,001

3.1.4 Diskussion

Vergleicht man die Daten aus der Literatur mit den eigenen Daten, so ergibt sich folgendes Bild:

In keinem der untersuchten Parameter konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Geschlechter festgestellt werden. Nur bei den Lymphozytenzahlen liegen die Werte der Männchen tendentiell über den Werten der Weibchen. Es gibt jedoch auch hier keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern. Entsprechend den Angaben in der Literatur (siehe Abschnitt 3.1.2) zeigt sich bei den trächtigen Weibchen ein signifikant höherer Anteil an Kurloff Zellen im differentielle Blutbild.

Die Erythrozytenzahlen, die Hämatokrit- und die Hämoglobinwerte der eigenen Daten unterscheiden sich zwischen den untersuchten Tiergruppen signifikant voneinander. Dabei zeigen die Gruppen m.3-10 und f.3-10 jeweils signifikant höhere Werte als alle anderen untersuchten Tiergruppen. Es gibt also innerhalb dieser drei Parameter einen signifikanten Alterseffekt. Bezüglich der Erythrozytenzahlen liegen alle Werte der untersuchten Gruppen innerhalb der Daten-Spannweite aus der Literatur (siehe Tabelle 3.1.1). Bei Hämatokrit- und Hämoglobinwerten liegen die Jungtiergruppen (m.3-10 und w.3-10) über den in der Literatur zitierten Werten.

Die Leukozytenzahlen unterscheiden sich in den selbst aufgenommenen Daten nicht innerhalb der Gruppen. Die Daten zeigen eine hohe Standardabweichung. Im Vergleich zu den Daten aus der Literatur liegen alle Werte innerhalb der dort gezeigten Varianz. Es gibt hier, im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Parametern keine altersbedingten Effekte.

Die gemessenen Daten zum differentiellen Blutbild unterscheiden sich in verschiedenen Punkten von den Daten in der Literatur. Die Werte für eosinophile Granulozyten liegen innerhalb der Spannweite, die in der Literatur angegeben ist. Allerdings gibt es innerhalb der eigenen Daten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Werte für Jungtiere (m.3-10 und w.3-10) und die der subadulten Männchen (m.30-40) liegen tendentiell höher als die der anderen untersuchten Gruppen.

Der Anteil der basophilen Granulozyten liegt teilweise oberhalb der in der Literatur angegebenen Werte. Dabei sind die Werte in den Jungtiergruppen (m.3-10 und f.3-10) signifikant höher als in den anderen untersuchten Gruppen. Nur diese zwei Gruppen liegen im Anteil der basophilen Granulozyten am differentiellen Blutbild oberhalb der in der Literatur beschriebenen Werte. Hier zeigt sich ebenfalls ein Alterseffekt.

Der Anteil der neutrophilen Granulozyten liegt bei allen gemessenen Gruppen unterhalb der Literaturwerte. Hier lässt sich kein Alterseffekt feststellen. Das gleiche gilt für die gemessenen Werte für den Anteil der Monozyten.

Der Anteil der Lymphozyten liegt teilweise oberhalb der in der Literatur gezeigten Werte. Die gemessenen Daten unterscheiden sich in den Gruppen signifikant voneinander. Die Werte der Weibchen liegen dabei tendentiell über den Werten der Männchen.

Bei allen Werten, sowohl in der Literatur, als auch bei den selbst aufgenommenen Daten zeigt sich eine große Streuung der Werte. Diese ist durch eine grosse interindividuelle Varianz bedingt. Die selbst aufgenommenen Daten machen jedoch deutlich, daß sich bei den Tieren bezüglich der Werte für Erythrozytenzahlen, Hämatokrit- und Hämoglobinwerte und den Anteil an basophilen Granulozyten deutliche Alterseffekte zeigen. Diese Effekte sind in der Literatur bisher nicht berücksichtigt oder beschrieben worden. Außer bei den Lymphozyten, deren Anteil bei Weibchen tendentiell höher ist als bei Männchen, konnten im Rahmen der vorliegenden relativ kleinen Stichprobe ($N=10$) keine geschlechtsspezifischen Unterschiede gezeigt werden.

Die Ergebnisse zeigen also, daß in zukünftigen Untersuchungen auf jeden Fall das Alter der Tiere einbezogen werden muß. Bei den Weibchen sollte ebenfalls der Reproduktionsstatus aufgrund des vermehrten Auftommens der sogenannten Kurloff Zellen im weißen Blutbild der Tiere berücksichtigt werden. Um abschließend Effekte des Geschlechts auf verschiedene Parameter, besonders im weißen Blutbild, ausschließen zu können, sollte hierzu eine größere Anzahl an Tieren, untersucht werden.

3.2 Effekte der Tragzeit auf die Immunantwort weiblicher Hausmeerschweinchen

3.2.1 Einleitung

Die Reproduktion ist für alle weiblichen Säugetiere eine energetisch sehr aufwendige Phase im Lebenslauf. Weibliche Hausmeerschweinchen produzieren in der Tragzeit nahezu 40% des eigenen Körpergewichts an Jungtiermasse. Während einer ca. 68 Tage langen Tragzeit produzieren die Weibchen im Durchschnitt 2-3 Jungtiere (Raffel, 1992). Die Produktion von Jungtiermasse, gemessen als Gewichtszunahme der Mutter, ist im zweiten und dritten Drittel der Tragzeit besonders deutlich.

Für die Weibchen bedeutet dies eine hohe Investition in die Produktion von foetalem Gewebe. Während der Tragzeit steigt die Nahrungsaufnahme der Tiere um ca. 16% an. Die Energieaufnahme beträgt etwa das 2,4fache des Basalstoffwechsels (Künkele, 2000b). Hier wird der Mehrbedarf an Energie, bzw. die Investition von Energie in die Jungtiere deutlich sichtbar.

Unter diesen Bedingungen kann es zu dem in Kapitel 1 beschriebenen Allokationsprozess kommen. Dabei besteht möglicherweise der zuvor beschriebene „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Reproduktion und anderen physiologisch wichtigen Prozessen wie dem Immunsystem.

Ist die Immunkompetenz während der Tragzeit reduziert, so kann dies zu einer erhöhten Anfälligkeit der Eltern gegenüber Parasiten, Bakterien und Viren führen, die das Überleben der Eltern und damit auch der Jungtiere gefährden.

Eine Reduktion der Reaktivität des Immunsystems könnte dem Schutz des Foetus dienen. Es sollte während der Befruchtung der Eizelle und der Implantation des Embryos in der Gebärmutter nicht zu einer Abstoßung der fremden Zellen (Spermien des Mannes; foetale Zellen) durch das Immunsystem der Mutter kommen. Daher wäre es denkbar, daß während der Tragzeit das Immunsystem der Mutter heruntergeregelt wird, um eine derartige Abstoßungsreaktion zu vermeiden. Ist dies der Fall, so könnte diese Reduktion jedoch das Überleben der Mutter und deren Fortpflanzungserfolg verringern.

Ob die spezifische Immunreaktion während der Tragzeit beeinträchtigt ist, wird in diesem Abschnitt überprüft. Es wird getestet, ob und in welcher Weise und Intensität sich die Tragzeit auf die Immunantwort weiblicher Hausmeerschweinchen auswirkt. Besteht der zuvor beschriebene „trade-off“, so würde man bei den trächtigen Weibchen, im Gegensatz zu nicht reproduzierenden Weibchen, eine verringerte oder gar keine Immunantwort erwarten.

Um das zu überprüfen werden reproduzierende weibliche Hausmeerschweinchen im

zweiten Drittel der Tragzeit (Tag 40 von 68 Tagen Tragzeit) mit einem Antigen (KLH) immunisiert. Die Stärke/ Intensität der Immunantwort wird ermittelt und mit der Immunantwort nicht reproduzierender Weibchen verglichen.

Zusätzlich werden weitere Versuchstiergruppen (reproduzierend und nicht reproduzierend) unter Nahrungsrestriktion gehalten. Hier soll überprüft werden, ob sich die Immunantwort unter begrenzter Energieverfügbarkeit (Nahrungsknappheit) von der Immunantwort nicht restriktierter Tiere unterscheidet. Durch die Restriktion erfolgt also eine Limitierung der Ressourcen, wodurch der „trade-off“ zwischen dem Immunsystem und anderen physiologischen Prozessen wie zum Beispiel der Reproduktion bei den trächtigen Tieren oder das Wachstum bei reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren, möglicherweise verstärkt werden könnte. Ist dies der Fall, so sollte die Immunantwort der restriktierten Tiere geringer ausfallen als in der jeweiligen ad libitum gefütterten Versuchsgruppe.

3.2.2 Methode

Bei den Versuchstieren handelt es sich um Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) aus der Zucht der Universität Bielefeld. Haltung und Nahrungskonditionen sind in Abschnitt 2.1.1 beschrieben.

Die Versuchstiere wurden -wie in Abschnitt 2.2.1 erläutert- immunisiert. Blutproben wurden den Tieren aus der Ohrvene entnommen. Es wurden jeweils die Leukozytenzahl bestimmt und ein differentielles Blutbild erstellt. Die Methodik dazu ist in Abschnitt 2.2.5 und 2.2.6 dargestellt. Aus jeder Blutprobe wurde der Antikörpertiter mit Hilfe des ELISA ermittelt. Der Test ist in Abschnitt 2.2.4 beschrieben.

Die Auswertung der verschiedenen Parameter erfolgt mittels Varianzanalysen (ANOVA). In diese Analysen gehen jeweils Reproduktions- (1: Tragzeit, 2: nicht reproduzierend), Immunisierungs- (1: immunisiert, 2. nicht immunisiert) und Futterstatus (1. ad libitum, 2: restriktiert) als unabhängige Variablen ein (Abb. 3.2.1. Als abhängige Daten gehen jeweils die gemessenen Werte in die Analyse ein. Die Ergebnisse der ANOVA sind in den Tabellen 3.2.2 und 3.2.3 aufgetragen. Auch wenn in den folgenden Abbildungen verschiedene Gruppen zu einer zusammengefasst sind (z.B.: Abb.3.2.2), gehen in die Analyse die Einzelgruppen ein (siehe Tab. 3.2.1).

Tabelle 3.2.1: Versuchsreihen (Tr.: Tragzeit; ad lib.: ad libitum; restr.: restriktiert). Die Bezeichnung der Reihen setzt sich aus Reproduktionsstatus (r: Tragzeit; nr: nicht reproduzierend), der Immunisierung (i: immunisiert; ni: nicht immunisiert) und der Futterkondition (a: ad libitum; r: restriktiert) zusammen. Zahlen in Klammern geben die Stichprobengröße an, bei der alle Parameter gemessen wurden (In Ansatz 1 (siehe Tabelle 2.2) wurden keine Leukozytenzahlen gemessen und kein Diff. Blutbild erstellt.)

Kategorie	Bezeichnung	Repro- duktion	Immuni- sierung	Tag der Immunisierung	Futter- kondition	N
Versuch I	r i a	+	+	Tag 40 Tr.	Ad lib.	16(8)
Versuch I	r i r	+	+	Tag 40 Tr.	Restr.	10
Kontrolle I	r ni a	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Ad lib.	18 (8)
Kontrolle I	r ni r	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Restr.	10
Kontrolle II	nr i a	-	+	107. LT	Ad lib.	8
Kontrolle II	nr i r	-	+	107. LT	Restr.	8
Kontrolle III	nr ni a	-	-	NaCl 107. LT	Ad lib.	8
Kontrolle III	nr ni r	-	-	NaCl 107. LT	Restr.	8

Reproduktions- status	Immunisierungs- status	Futter- status
reproduzierend	immunisiert	ad libitum
		restriktiert
	nicht immunisiert	ad libitum
		restriktiert
nicht reproduzierend	immunisiert	ad libitum
		restriktiert
	nicht immunisiert	ad libitum
		restriktiert

Abbildung 3.2.1: Struktur der Varianzanalyse. Reproduktions-, Immunisierungs-, und Futterstatus stellen die unabhängigen Variablen in der Analyse dar.

3.2.3 Ergebnisse

3.2.3.1 Konditionelle Parameter

Abbildung 3.2.2 zeigt den Gewichtsverlauf der Versuchstiere während der Tragzeit und Laktation. Das Gewicht der Weibchen zu Beginn der Versuche (nicht reproduzierende Weibchen) bzw. bei Konzeption (reproduzierende Weibchen) ging als Co-Variable ein, da die Tiere aus Ansatz 1 (siehe Tabelle 2.2) ca. 50 Tage älter und damit auch bei der Konzeption signifikant schwerer waren.

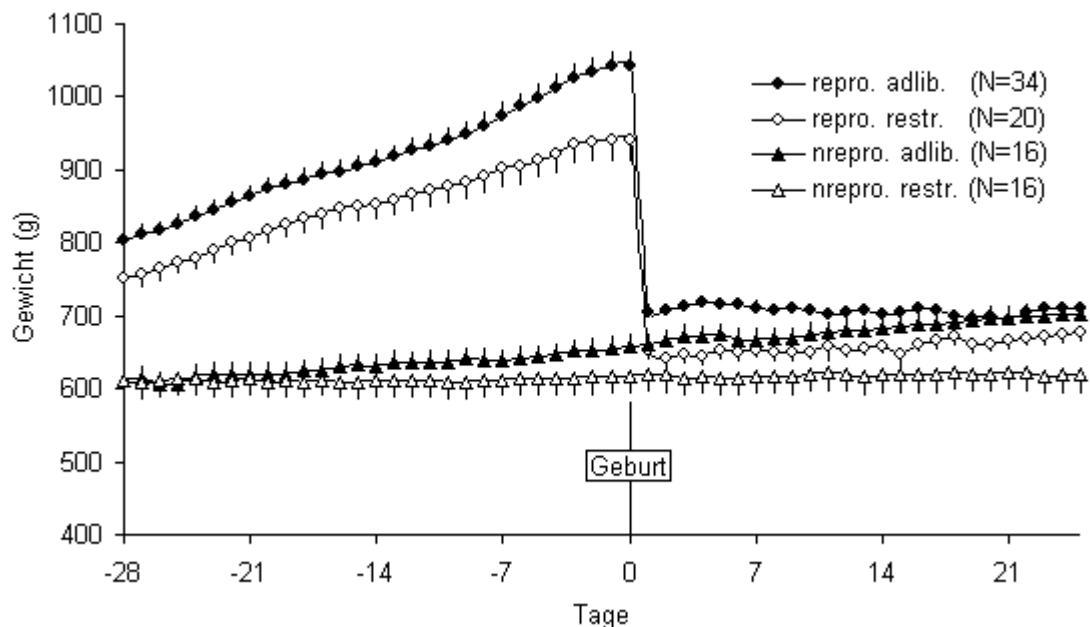


Abbildung 3.2.2: Gewichte der Weibchen (Mittel \pm SE). Es sind jeweils reproduzierende ad libitum gefütterte, reproduzierende restriktierte, nicht reproduzierende ad libitum gefütterte und nicht reproduzierende restriktierte Tiere zusammengefasst. Während der Tragzeit war das Gewicht der reproduzierenden Weibchen signifikant höher als das Gewicht der nicht reproduzierenden Weibchen. (Statistik im Text)

In der folgenden Tabelle (3.2.2) sind die Ergebnisse der Varianzanalyse der Gewichte und der im folgenden dargestellten Ergebnisse, die die konditionellen Parameter der Versuchstiere betreffen dargestellt.

Tabelle 3.2.2: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für Konditionsparameter. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs- und Futterstatus; abhängige Variablen: Versuchstag(e). Int.: Interaktion (nur signifikante Interaktionen angegeben). Für jeden Parameter wurde eine eigene Analyse erstellt.

Parameter	Effekt	FG	FG Fehler	F	p
Gewicht Mutter Tragzeit	1.Reproduktion	1	77	268,65	<0,001
	2.Immunisierung	1	77	0,225	0,637
	3.Futter	1	77	0,919	0,341
	4.Tage (Verlauf)	28	2184	255,64	<0,001
	Int. 1. & 4.	28	2184	158,96	<0,001
	Int. 3. & 4.	28	2184	9,289	<0,001
Gewicht Mutter Laktation	1.Reproduktion	1	77	15,233	<0,001
	2.Immunisierung	1	77	0,016	0,901
	3.Futter	1	77	8,399	0,0049
	4.Tage (Verlauf)	24	1872	6,700	<0,001
	Int. 1. & 3.	1	77	6,457	0,013
	Int. 1. & 4.	24	1872	2,226	<0,001
	Int. 1., 3. & 4.	24	2184	7,414	<0,001
Wachstum Mutter	1.Reproduktion	1	77	16,519	<0,001
	2.Immunisierung	1	77	0,010	0,919
	3.Futter	1	77	0,235	0,629
	Int. 1. & 3.	1	77	21,633	<0,001
Nahrungsverbrauch Mutter Tragzeit	1.Reproduktion	1	77	96,748	<0,001
	2.Immunisierung	1	77	0,5325	0,468
	3.Futter	1	77	82,639	<0,001
	4.Tage (Verlauf)	28	2184	2,899	<0,001
	Int. 1. & 4.	28	2184	3,348	<0,001
	Int. 3. & 4.	28	2184	1,971	0,002
Nahrungsverbrauch Mutter Laktation	1.Reproduktion	1	77	249,24	<0,001
	2.Immunisierung	1	77	1,586	0,212
	3.Futter	1	77	14,193	<0,001
	4.Tage (Verlauf)	24	1872	255,64	<0,001
	Int. 1. & 4.	24	1872	20,722	<0,001
maternaler Aufwand	1.Immunisierung	1	50	1,459	0,233
	2.Futter	1	50	0,456	0,503
Geburtsgewicht	1.Immunisierung	1	50	0,918	0,343
Jungtiere	2.Futter	1	50	48,387	<0,001
Wurfgröße bei Geburt	1.Immunisierung	1	50	0,569	0,454
	2.Futter	1	50	3,185	0,080
effektive Wurfgröße	1.Immunisierung	1	50	0,082	0,776
	2.Futter	1	50	0,491	0,487
Geschlechter- verhältnis	1.Immunisierung	1	50	1,886	0,176
	2.Futter	1	50	0,093	0,762
Mortalität	1.Immunisierung	1	50	0,549	0,462
Jungtiere	2.Futter	1	50	2,919	0,094

Die statistische Analyse zeigte, daß der Immunisierungsstatus keinen Einfluß auf die Gewichte der Weibchen während der Tragzeit hatte (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2), wohingegen der Reproduktionsstatus einen signifikanten Einfluß auf den Gewichtsverlauf hatte. Während der Tragzeit lag das Gewicht der reproduzierenden Weibchen signifikant über dem Gewicht der nicht reproduzierenden Tiere. Bei den reproduzierenden Tieren gab es einen signifikanten Anstieg des Gewichts bis zur Geburt der Tiere. Dabei zeigten bei den reproduzierenden Tieren restriktierte und ad libitum gefütterte Tiere einen signifikant unterschiedlichen Anstieg über die Tragzeit hinweg (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). In vergleichbaren Gruppen (reproduzierend bzw. nicht reproduzierend) lagen die Gewichte der ad libitum gefütterten Tiere über den Gewichten der restriktierten Tiere.

Während der Laktation bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bezüglich des Reproduktions- und Futterstatus (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). Auch hier beeinflusste die Immunisierung das Gewicht der Weibchen nicht. Die Daten aller Tiere zeigten einen signifikanten Verlauf über die Tragzeit. Dabei unterschied sich der Gewichtsverlauf der ad libitum gefütterten Tiere von den restriktierten Tieren. Auch der Verlauf der reproduzierenden Tieren unterschied sich von den nicht reproduzierenden Tieren (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). In der Gruppe der nicht reproduzierenden Tiere unterschied sich das Gewicht der Tiere anfangs nicht. Restriktierte Tiere nehmen im Laufe des Versuchs nicht nachweisbar an Gewicht zu (nicht reproduzierende Gruppe). Bei der reproduzierenden Gruppe waren schon am Anfang des Versuchs Unterschiede gegeben, die sich aber über den Versuchsablauf nicht nachweisbar veränderten.

Die Versuchstiere waren zu Beginn der Versuche noch nicht ausgewachsen. In der folgenden Abbildung (3.2.3) ist das Wachstum der Tiere während des kompletten Versuchs (in allen Gruppen ca. 100 Tage) aufgetragen (Differenz zwischen dem Gewicht bei Konzeption (reproduzierende Tiere) bzw. zu Versuchsbeginn (nicht reproduzierende Tiere) und Gewicht am Versuchsende). Die Ergebnisse der statistischen Analyse sind in Tab. 3.2.2 aufgelistet.

Reproduzierende Weibchen wuchsen über den Versuchsablauf gesehen signifikant mehr als nicht reproduzierende Weibchen im gleichen Zeitraum. Die Immunisierung oder das Nahrungsangebot hatten keinen nachweisbaren Einfluss auf das Wachstum der Weibchen. In Abbildung 3.2.3 sind deshalb immunisierte und nicht immunisierte Gruppen zusammengefaßt. Die Werte für die restriktierten Tiere lagen teilweise unter denen der ad libitum gefütterten Tiere. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2).

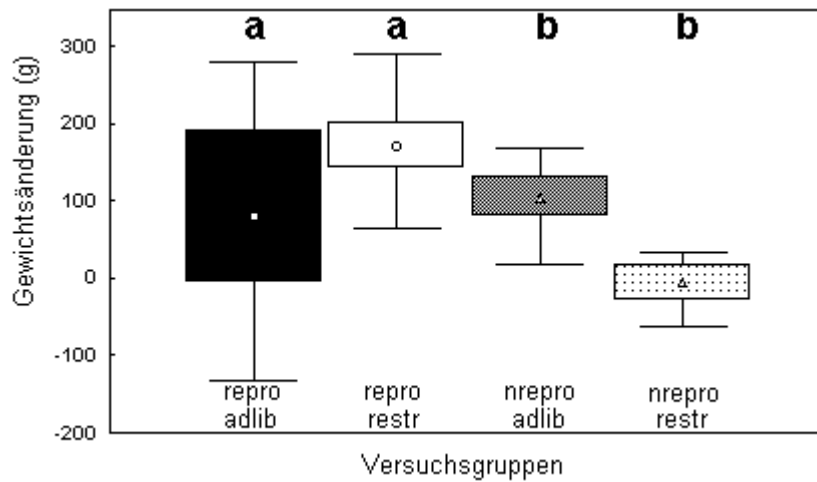


Abbildung 3.2.3: Wachstum der Weibchen (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Es sind jeweils reproduzierende ad libitum gefütterte, reproduzierende restriktierte, nicht reproduzierende ad libitum gefütterte und nicht reproduzierende restriktierte Tiere zusammengefasst. (unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Werte)(Statistik im Text).

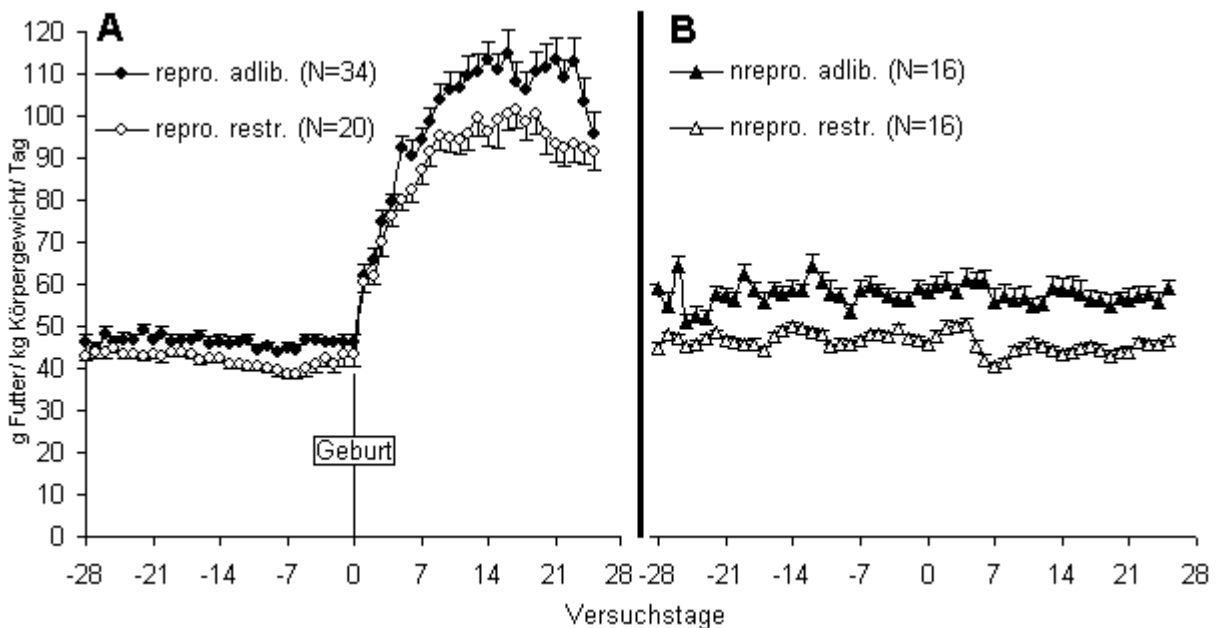


Abbildung 3.2.4: Nahrungsverbrauch der reproduzierenden (A) und nicht reproduzierenden (B) Weibchen (Mittel \pm SE). Es sind jeweils reproduzierende ad libitum gefütterte, reproduzierende restriktierte, nicht reproduzierende ad libitum gefütterte und nicht reproduzierende restriktierte Tiere zusammengefasst (Statistik im Text).

Die vorausgehende Abbildung (3.2.4) zeigte den tägliche Nahrungsverbrauch der

Weibchen pro kg Körpergewicht dargestellt. Die Gruppen wurden, wie schon in Abbildung 3.2.2 zusammengefasst, da sich in vergleichbaren Gruppen die immunisierten Tiere nicht von den nicht immunisierten unterscheiden.

Während der Tragzeit unterschied sich die Nahrungsaufnahme reproduzierenden Weibchen signifikant von der Aufnahme nicht reproduzierender Weibchen (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). Die Immunisierung hatte keinen Einfluss auf die Nahrungsaufnahme der Tiere (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). Die Nahrungsaufnahme der restriktierten Tiere lag während der Tragzeit und der Laktation versuchsbedingt signifikant unter der der ad libitum gefütterten Tiere. Während der Laktation war die Nahrungsaufnahme laktierender Tiere signifikant höher als die Aufnahme der nicht reproduzierenden Tiere (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). Sowohl während Tragzeit als auch Laktation zeigte sich eine signifikante Änderung der Nahrungsaufnahme in Abhängigkeit von Reproduktions- und Futterstatus.

Der maternale Aufwand (Abb.3.2.5) der Versuchsweibchen ergibt sich aus der Gesamtmasse der produzierten Jungtiere eines Weibchens dividiert durch das Gewicht bei Konzeption. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bezogen auf die Variable Immunisierungs- oder Futterstatus (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2).

Betrachtet man die mittleren Geburtsgewichte (Abb.3.2.6) der produzierten Jungtiere (ANOVA; unabhängige Var. Futter und Immunisierung), so wird deutlich, daß Jungtiere restriktierter Weibchen signifikant leichter geboren wurden als Jungtiere ad libitum gefütterter Weibchen (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2). Die Immunisierung der Mütter hatte keinen Einfluß auf das Geburtsgewicht der Jungtiere.

Weder die natürliche Wurfgröße bei der Geburt noch die effektive Wurfgröße (überlebende Jungtiere) (Abb.3.2.7), die Mortalität noch das Geschlechterverhältnis der Versuchsgruppen unterschieden sich signifikant voneinander (ANOVA, siehe Tab. 3.2.2).

Bisher konnte also gezeigt werden, daß die Immunisierung keinen nachweisbaren Einfluß auf die zuvor beschriebenen konditionellen Parameter hatte. Gab es Unterschiede zwischen den Gruppen, so waren diese durch die Futterrestriktion bedingt.

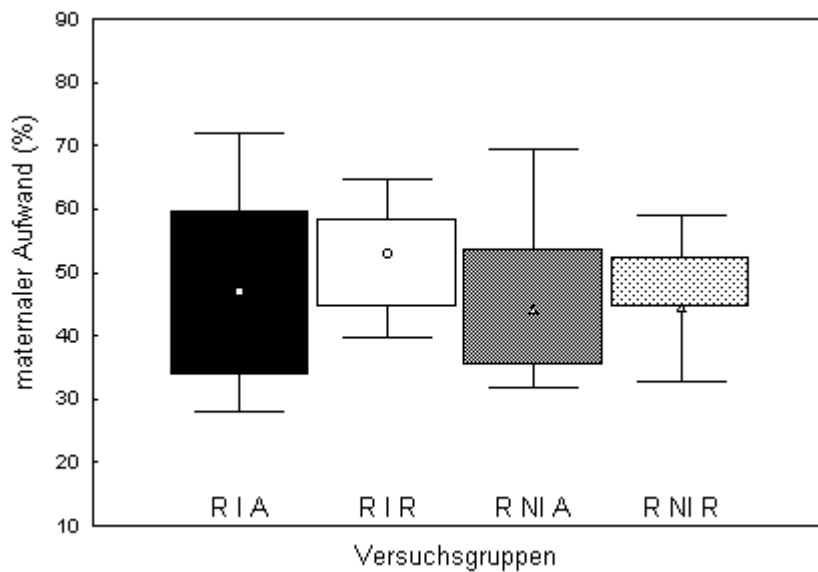


Abbildung 3.2.5: Maternaler Aufwand (Median: Box, 25% 75%: Whisker) Der maternale Aufwand ergibt sich aus der Gesamtmasse der produzierten Jungtiere eines Weibchens dividiert durch das Gewicht bei Konzeption. Es bestehen keine Unterschiede zwischen den Gruppen (Statistik im Text).

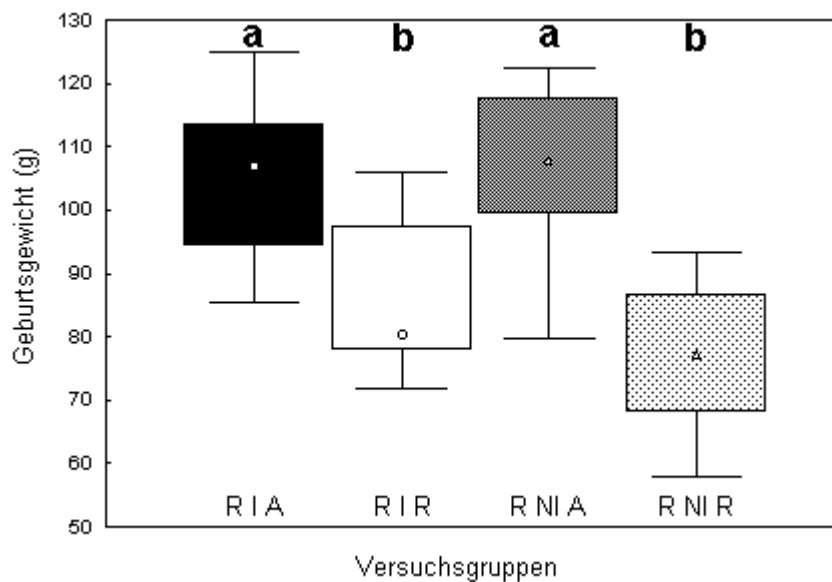


Abbildung 3.2.6: Mittleres Geburtsgewicht der Jungtiere (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Die Jungtiere restriktierter Mütter waren bei der Geburt signifikant leichter als Jungtiere ad libitum gefütterter Weibchen (unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Werte)(Statistik im Text).

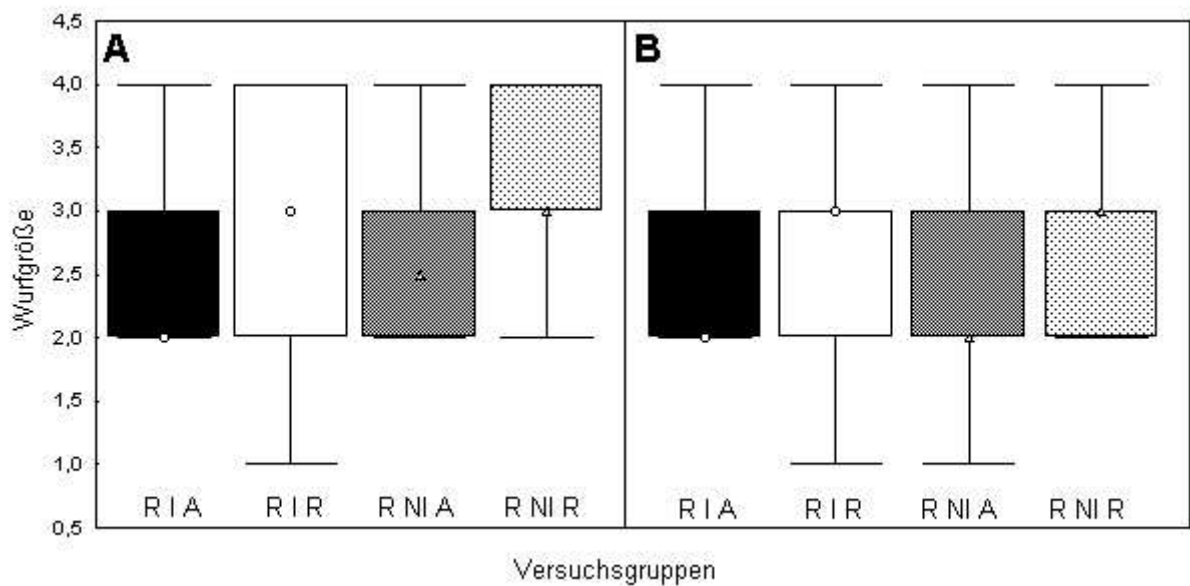


Abbildung 3.2.7: Natürliche Wurfgröße bei der Geburt (A) und effektive (B) Wurfgröße (überlebende Jungtiere) (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Weder natürliche noch tatsächliche Wurfgröße unterschieden sich zwischen den Gruppen (Statistik im Text).

3.2.3.2 Immun/Blut spezifische Parameter

Abbildung 3.2.8 zeigt die in der Serumanalyse bei 405nm gemessene Extinktion. Diese ist analog zu den von den Tieren produzierten Antikörpern. Eine höhere Extinktion bedeutet also mehr produzierte Antikörper. Dargestellt ist die Extinktion zwei Wochen nach der 1. Immunisierung (Versuchstag -14). Die Daten wurden für das bei den jeweiligen Kontrollgruppen gemessene Hintergrundrauschen, das durch unspezifische Bindungen hervorgerufen wird, korrigiert (nicht immunisierte Tiere; Gruppen siehe Tabelle 3.2.1). Dazu wurde jeweils der mittlere in der Analyse gemessene Wert aller Tiere der nicht immunisierten Kontrollgruppe am gleichen Versuchstag von den bei den Versuchsgruppen ermittelten Werten abgezogen. Dieser Wert für die unspezifische Bindungen liegt im Mittel aller Kontrollgruppen bei etwa 0,01 mit einem Minimum von -0,03 und einem Maximum von ca. 0,04.

Zwei der Weibchen aus der Versuchsgruppe der nicht reproduzierenden, immunisierten, restriktierten Versuchsgruppe haben keine Immunreaktion gezeigt. Die in ihrem Blutserum gemessene Extinktion unterscheidet sich nicht von der bei nicht immunisierten Tieren gemessenen. Die zwei Tiere wurden daher nicht in die statistische Analyse und die Darstellung der Daten (Abb. 3.2.8- Abb. 3.2.12) einbezogen. Die nicht vorhandene Immunreaktion ist möglicherweise auf nicht genau bestimmbare Fehler bei der Immunisierung der Tiere zurückzuführen. Auch wenn die Werte dieser

Tiere in die Analyse einbezogen würden, gäbe es keine gravierenden Unterschiede in den vorliegenden Ergebnissen.

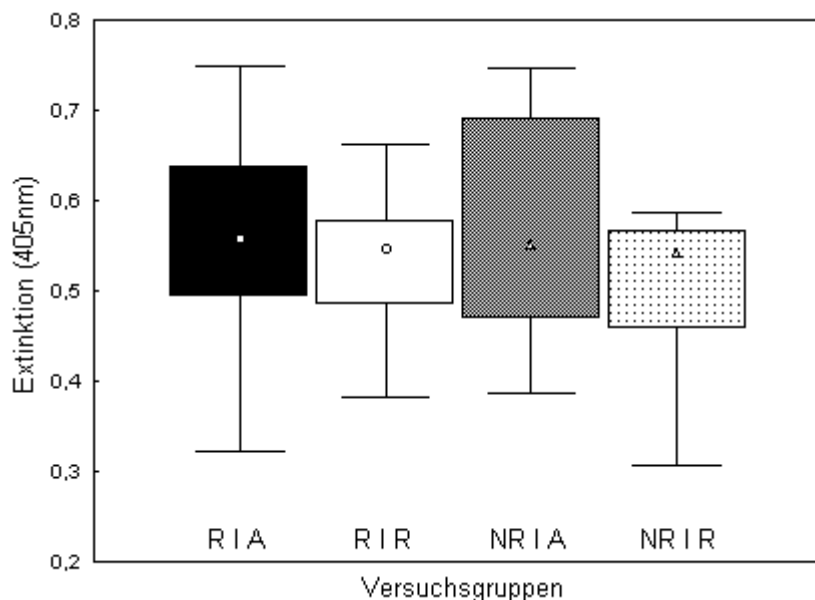


Abbildung 3.2.8: Extinktion gemessen an Tag -14 (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Die ad libitum gefütterten Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant von den restriktierten Gruppen. Stichprobengrößen sind in Tabelle 3.2.1 angegeben. (Statistik im Text).

Für die statistische Analyse wurden die in Abb. 3.2.8 und 3.2.9 dargestellten Daten auf Normalverteilung getestet. Die Daten wichen teilweise signifikant von der Normalverteilung ab (Shapiro-Wilks Test; $p < 0,05$). Daher wurden sie für die statistische Analyse (ANOVA) mit Hilfe der Funktion $y = x^2$ transformiert. In die Analyse gehen Reproduktionsstatus und Futterstatus als unabhängige, die Extinktion als abhängige Variable, wie zuvor beschrieben, ein. Die statistische Analyse der Extinktionsdaten (Abb. 3.2.8) zeigt, daß weder der Reproduktionsstatus noch der Futterstatus Einfluß auf die gemessene Extinktion, also den Antikörpertiter hatten (ANOVA, siehe Tab. 3.2.3).

Die folgende Abbildung (3.2.9 zeigt den Verlauf der Antikörperproduktion nach der Immunisierung mit KLH der Gruppen r i a, r i r, nr i a und nr i r (siehe Tabelle 3.2.1). Da den Tieren der Gruppen r i a und r i r am Tag der Geburt der Jungtiere keine Blutprobe entnommen wurde handelt es sich bei den in Abbildung 3.2.9 dargestellten Datenpunkten um interpolierte Werte. Es wurde der Mittelwert zwischen den Werten von Tag -7 und 7 berechnet. Alle Werte wurden wie zuvor beschrieben für das bei den jeweiligen Kontrollgruppen gemessene Rauschen korrigiert.

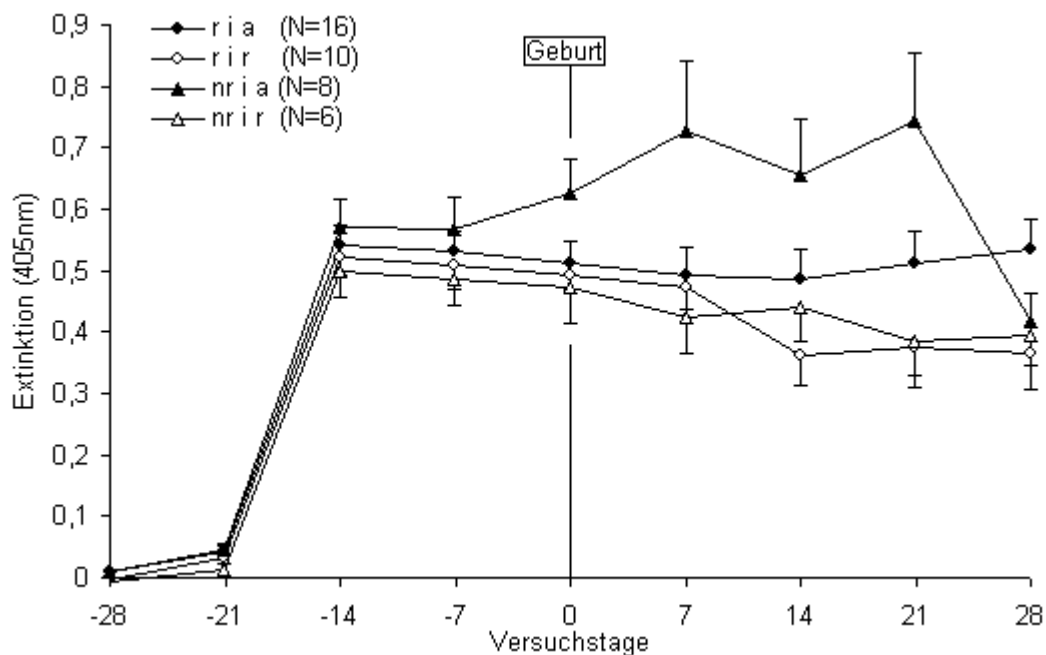


Abbildung 3.2.9: Gemessene Extinktion der Serumproben im Verlauf des Versuchs (Mittel \pm SE). Die Extinktion verläuft analog zu der Menge der produzierten Antikörper. Die Produktion von Antikörpern war bei allen Gruppen zwei Wochen nach der ersten Immunisierung nachweisbar (Statistik im Text).

Die statistische Analyse zeigt keine Unterschiede in der gemessenen Extinktion zwischen reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren (ANOVA, siehe Tab. 3.2.3). Der Reproduktionsstatus hatte also keinen Einfluß auf die Immunantwort der Tiere. Der Futterstatus hatte einen signifikanten Einfluß auf die gemessene Extinktion (ANOVA, siehe Tab. 3.2.3). ber die gesamte Versuchsdauer betrachtet (Tag -28 bis Tag 28) produzieren beide restriktierten Gruppen (r i r und nr i r) weniger Antikörper als die ad libitum gefuttern Tiere .

In der folgenden Abbildung (3.2.10) ist die Änderung der Extinktion zwischen der dritten (Tag -14) und neunten (Tag 28) Blutprobe aufgetragen (Differenz zwischen der Extinktion an Tag -14 und Tag 28). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Gruppen (ANOVA, siehe Tab. 3.2.3). Der Antikörpertiter sank in allen Gruppen gleich stark um ca. 17% der Gesamtextinktion (im Mittel ca. 0,6).

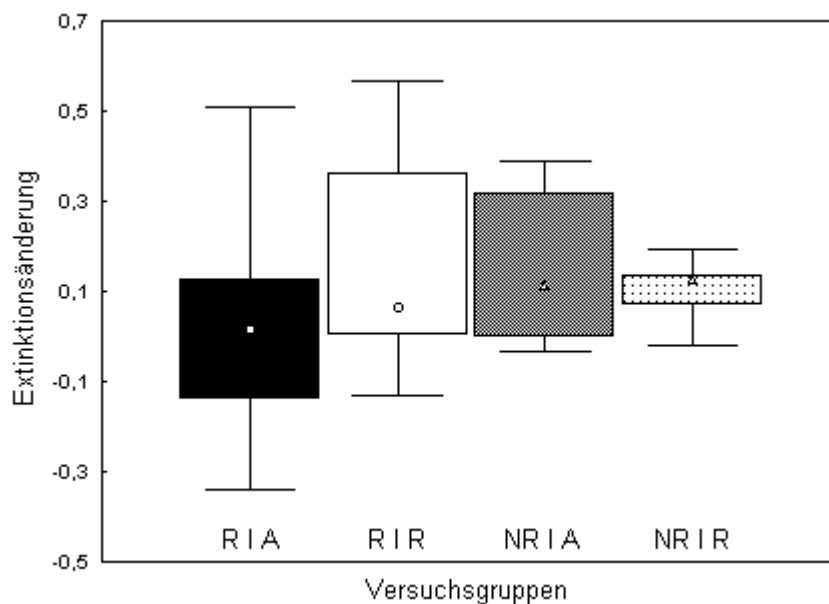


Abbildung 3.2.10: Änderung der Extinktion zwischen der dritten (Tag -14) und neunten (Tag 28) Blutprobe. Die Gruppen unterscheiden sich nicht voneinander (Statistik im Text).

Abbildung 3.2.11 zeigt die mittlere Extinktion der Serumproben zwei Wochen nach der ersten Immunisierung (Tag -14/ 3. Blutprobe) im Vergleich zur letzten entnommenen Blutprobe (Tag 28/ 9. Blutprobe). Alle immunisierten Tiere wurden zu einer Gruppe zusammengefaßt (Gruppen siehe Tabelle 3.2.1), da weder Reproduktionsstatus, noch Futterstatus die Verringerung der gemessenen Extinktion beeinflussen (S.o.; Abb. 3.2.10). Die Extinktion war an Tag 28 signifikant um ca. 0,1 niedriger als an Tag -14 (Wilcoxon- Test für gepaarte Stichproben, $N=40$; $Z=2,62$; $p<0,01$). Der Antikörpertiter im Serum nahm also im Laufe der Zeit um ca. 18% ab.

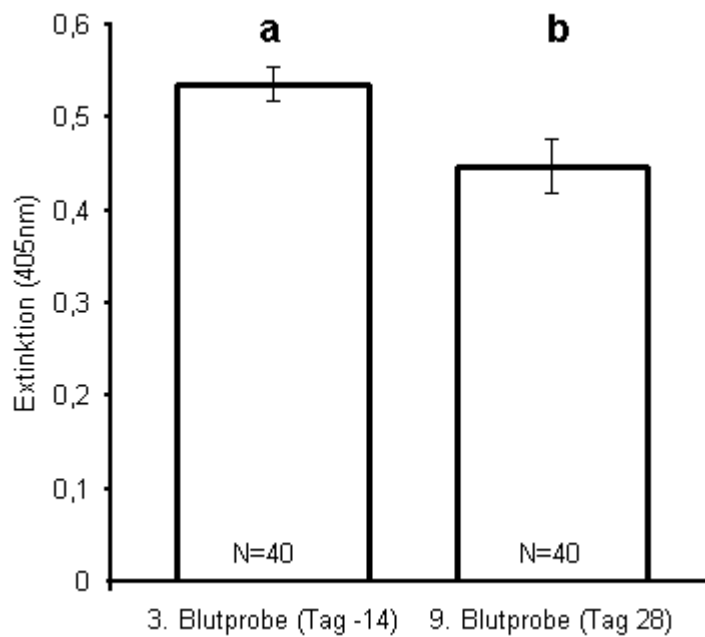


Abbildung 3.2.11: Extinktion an Tag -14 im Vergleich zu Tag 28 (Mittel \pm SE). Die Extinktion war an Tag 28 signifikant niedriger als an Tag -14. Der Antikörper- Titer im Serum nimmt im Laufe der Zeit ab (unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Werte)(Statistik im Text).

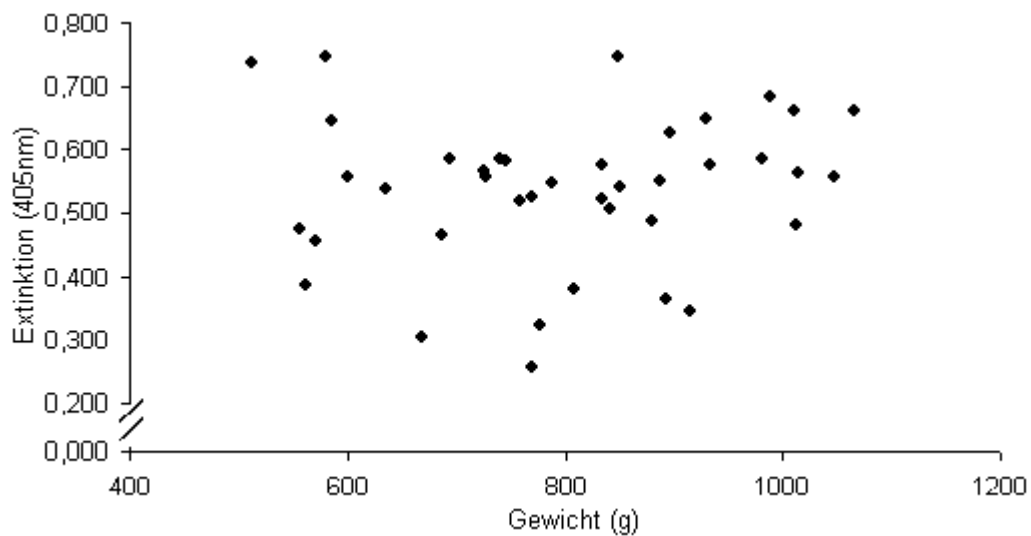


Abbildung 3.2.12: Gewicht an Tag -14 bezogen auf die zu diesem Zeitpunkt gemessene Extinktion. Es besteht keine Korrelation zwischen den beiden Parametern (Statistik im Text).

Trägt man die Extinktion an Tag -14 (3. Blutprobe; 2 Wochen nach der ersten

Immunisierung gegen das Gewicht der Weibchen zu diesem Zeitpunkt auf (siehe Abb.3.2.12), so zeigt sich keine Korrelation zwischen diesen beiden Parametern (Pearson Korrelation; $N=40$; $r=0,107$; $p=0,510$). Schwerere Weibchen haben also nicht mehr Antikörper als leichtere Weibchen gebildet.

Die Anzahl der Leukozyten wurde nur in den Ansätzen 2-5 (siehe Tabelle 2.2) bestimmt und ausgewertet. In die statistische Analyse (ANOVA) gehen wie zuvor beschriebenen Reproduktions-, Immunisierungs und Futterstatus der Weibchen als unabhängige Variablen ein.

Die Leukozytenzahlen (Abb. 3.2.13) zeigten keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Weder Reproduktions- (ANOVA $F_{1,60}=2,9$ $p>0,05$), Immunisierungs- (ANOVA $F_{1,60}=3,9$ $p>0,05$) noch der Futterstatus (ANOVA $F_{1,60}=0,3$ $p>0,05$) wirkten sich auf die Leukozytenmenge aus.

In Abbildung 3.2.13 sind alle reproduzierenden Tiere und alle nicht reproduzierenden Tiere zu jeweils einer Gruppe zusammengefasst. Während der Tragzeit bestand bei den reproduzierenden Tieren ein signifikanter Verlauf (ANOVA $F_{1,180}=12,4$ $p<0,001$). Bei den reproduzierenden Weibchen fiel die Leukozytenzahl bis zur Geburt der Jungtiere.

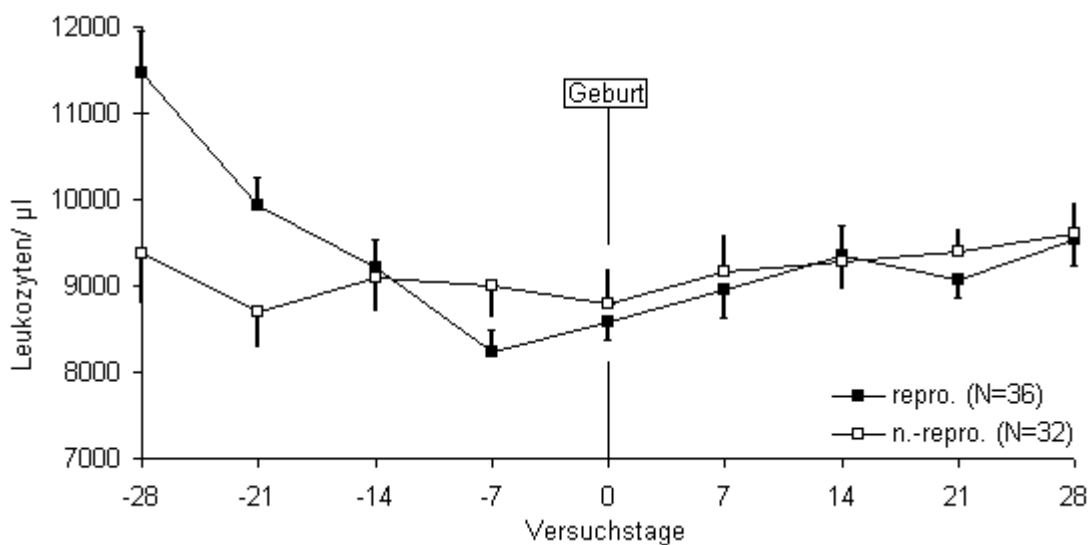


Abbildung 3.2.13: Leukozytenzahlen der Weibchen (Mittel \pm SE). Es sind jeweils reproduzierende und nicht reproduzierende Tiergruppen zusammengefasst. Die Gruppen unterschieden sich nicht voneinander (Statistik im Text).

Tabelle 3.2.3: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für Blut-/ Immunologische Parameter. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs- und Futterstatus; abhängige Variablen: Versuchstag(e). Int.: Interaktion zwischen zwei Parametern (nur signifikante Interaktionen angegeben). Für jeden Parameter wurde eine eigene Analyse erstellt.

Parameter	Effekt	FG	FG Fehler	F	p
Extinktion	1.Reproduktion	1	36	0,012	0,914
3. Blutprobe	2.Futter	1	36	1,655	0,206
Extinktion	1.Reproduktion	1	36	1,837	0,184
Verlauf	2.Futter	1	36	8,997	0,005
	3.Tage (Verlauf)	8	288	26,903	<0,001
	Int. 2. & 3.	8	288	4,360	<0,001
Extinktions- änderung	1.Reproduktion	1	38	0,293	0,591
	2.Futter	1	38	0,412	0,525
Leukozyten	1.Reproduktion	1	60	0,480	0,491
	2.Immunisierung	1	60	0,360	0,551
	3.Futter	1	60	0,028	0,868
	4.Tage (Verlauf)	8	480	7,007	<0,001
	Int. 1. & 4.	8	480	4,864	<0,001

Die folgende Tabelle 3.2.4 zeigt, daß zu Versuchsbeginn keine Unterschiede in differentiellen weißen Blutbild zwischen den einzelnen Versuchsweibchen der in Tab. 3.2.1 beschriebenen Gruppen gab. In die statistische Analyse geht nur die Versuchsgruppe (r i a, r i r, r ni a, r ni r, nr i a, nr i r, nr ni a und nr ni r) als unabhängige Variable ein, da die Tiere zu diesem Zeitpunkt weder trächtig noch immunisiert oder restriktiert waren. Alle Zelltypen waren in den Gruppen in gleicher Höhe vertreten.

Tabelle 3.2.4: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für die Zelltypen des differentiellen weißen Blutbilds am 50. Lebenstag der Versuchsweibchen. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs- und Futterstatus. Für jeden Zelltyp wurde eine eigene Analyse erstellt.

Zelltyp	FG	FG Fehler	F	p
Kurloff Zellen	9	60	1,25	0,292
basophile Granulozyten	9	60	1,24	0,309
eosinophile Granulozyten	9	60	1,69	0,128
neutrophile Granulozyten	9	60	1,21	0,311
Lymphozyten	9	60	1,49	0,186
Monozyten	9	60	0,90	0,512

Im folgenden wird jeweils das differentielle weißen Blutbild der Versuchsgruppen

über den Versuchsverlauf untersucht. Es wurden jeweils die Blutausstriche zum Zeitpunkt der ersten Immunisierung und Blutprobe, der zweiten Immunisierung und Blutprobe und der dritten Blutprobe ausgewertet (repeats).

Vergleicht man den Anteil der Kurloff Zellen im weißen Blutbild der Tiere so ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus der Tiere (Tabelle 3.2.5). Die trächtigen Weibchen hatten bei allen drei ausgewerteten Ausstrichen einen signifikant höheren Anteil an Kurloff Zellen als nicht reproduzierende Weibchen.

In der folgende Abbildung wurden jeweils Mittelwerte über alle drei Ausstriche/Zeitpunkte für die Tiergruppen der trächtigen Weibchen (Tragzeit: r i a, r i r, r ni a, r ni r) und nicht trächtigen Weibchen (nicht reproduzierend: nr i a, nr i r, nr ni a, nr ni r) gebildet, da weder die repeats (Ausstriche, Zeit) noch die Immunisierung oder die Futterkondition einen nachweisbaren Einfluß auf den Anteil der Kurloff Zellen hatten (Tab. 3.2.5). Alle anderen Zelltypen (Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten) zeigten keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen (Tab. 3.2.5).

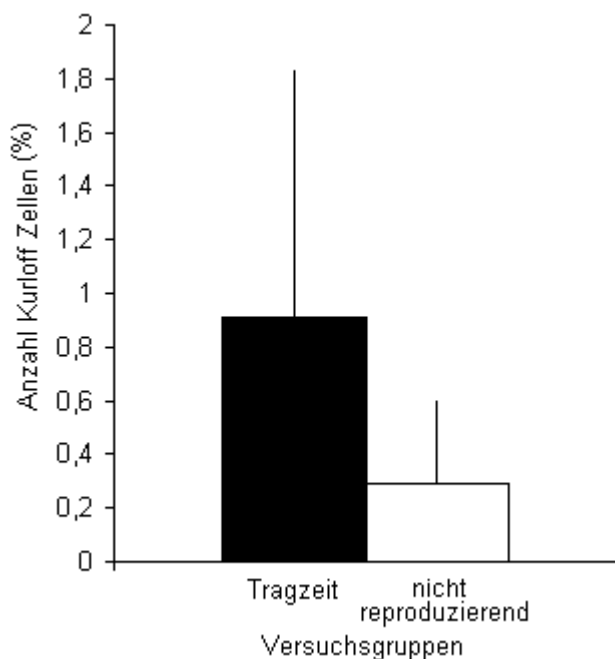


Abbildung 3.2.14: Anzahl der Kurloff Zellen (%-Anteil der Leukozyten)(Mittel \pm SE). (Statistik im Text).

Tabelle 3.2.5 zeigt eine signifikante Änderung des Anteil der Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten über den Verlauf des Versuchs. Diese Änderung ist in der folgenden Abbildung 3.2.15 dargestellt. Es fällt auf, daß der Abfall des Anteils der

neutrophilen Granulozyten zeitgleich zu einem Anstieg des Lymphozyten- Anteils verläuft.

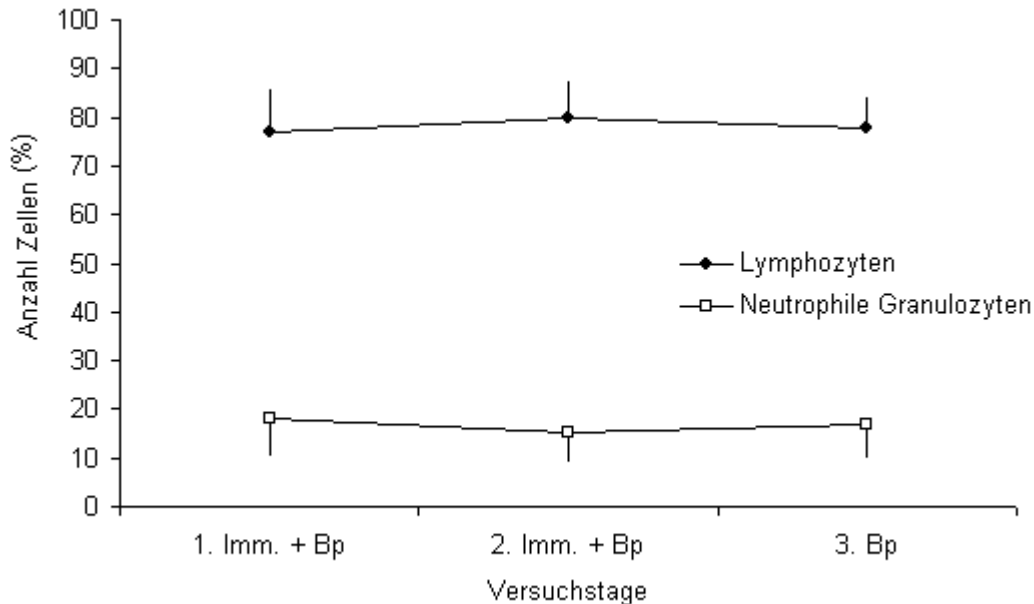


Abbildung 3.2.15: Anzahl der Lymphozyten und neutrophile Granulozyten aller Tiere (%-Anteil der Leukozyten)(Mittel \pm SE). (Statistik im Text).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen also das folgende Bild: Bei allen immunisierten Tieren waren eine Woche nach der zweiten Immunisierung, also zum Zeitpunkt der dritten Blutentnahme, Antikörper gegen das injizierte KLH nachweisbar. Die Immunantwort, gemessen als Extinktion, unterschied sich nicht zwischen den reproduzierenden und nicht reproduzierenden Weibchen. Über den gesamten Verlauf der Versuche gesehen, bildeten restriktierte Tiere eine geringere Menge an Antikörpern als ad libitum gefütterte Weibchen. Die Immunantwort war allerdings unabhängig vom Gewicht der Weibchen. Bei allen immunisierten Tieren der untersuchten Gruppen nahm der Antikörpertiter im Blut im Laufe des Versuchs ab.

Änderungen im differentiellen weißen Blutbild sind allein durch den Reproduktionsstatus bedingt, jedoch unabhängig von einer Immunisierung. Diese hat also keinen nachweisbaren Einfluß.

Tabelle 3.2.5: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für die Zelltypen des differentiellen weißen Blutbilds. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs-, Futterstatus und Verlauf (Versuchstage) Versuchstage sind 1.Immunisierung und Blutprobe, 2. Immunisierung und Blutprobe und 3. Blutprobe. Für jeden Zelltyp wurde eine eigene Analyse erstellt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über alle Tiere und Tage.

Zelltyp	Mittel	Effekt	FG			
	\pm SD		FG	Fehler	F	p
Kurloff	0,510	1.Reproduktion	1	60	7,37	0,009
Zellen	\pm 0,629	2.Immunisierung	1	60	4,55	0,369
	siehe Abb.	3. Futter	1	60	0,09	0,767
		4.Verlauf (Tage)	2	120	0,77	0,466
basophile	0,583	1.Reproduktion	1	60	0,42	0,518
Granulozyten	\pm 0,645	2.Immunisierung	1	60	2,40	0,127
		3. Futter	1	60	0,42	0,513
		4.Verlauf (Tage)	2	120	0,55	0,576
eosinophile	1,926	1.Reproduktion	1	60	3,03	0,087
Granulozyten	\pm 0,897	2.Immunisierung	1	60	0,40	0,330
		3. Futter	1	60	1,90	0,173
		4.Verlauf (Tage)	2	120	0,95	0,388
neutrophile	16,760	1.Reproduktion	1	60	1,30	0,259
Granulozyten	\pm 4,847	2.Immunisierung	1	60	0,04	0,847
	siehe Abb.	3. Futter	1	60	0,05	0,822
		4.Verlauf (Tage)	2	120	3,61	0,030
Lymphozyten	60,348	1.Reproduktion	1	60	3,19	0,079
	\pm 5,590	2.Immunisierung	1	60	0,01	0,910
	siehe Abb.	3. Futter	1	60	0,09	0,766
		4.Verlauf (Tage)	2	120	3,14	0,047
Monozyten	2,113	1.Reproduktion	1	60	3,30	0,074
	\pm 0,838	2.Immunisierung	1	60	0,12	0,727
		3. Futter	1	60	0,76	0,387
		4.Verlauf (Tage)	2	120	0,40	0,637

3.2.4 Diskussion

Konditionelle Parameter

Die Auswertung der konditionellen Parameter der Mütter wie Gewicht, Wachstum, Nahrungsaufnahme und maternaler Aufwand sowie Geburtsgewicht, Wurfgröße, Mortalität und Geschlechterverhältnis der Jungtiere zeigt keinen Einfluß der

Immunisierung mit dem Antigen KLH auf diese Parameter.

Die Unterschiede, die bezüglich dieser Faktoren gezeigt werden konnten sind durch den Reproduktionsstatus und die Nahrungsrestriktion der Weibchen zu erklären und entsprechen den Erwartungen.

Raffel et al. (1996) zeigt bereits ein besseres Wachstum reproduzierender Weibchen im Gegensatz zu nicht reproduzierenden Weibchen. Die in dieser Arbeit aufgenommenen Daten entsprechen diesem Befund.

Die Restriktion der Weibchen beeinflusst sowohl das Gewicht der Tiere als auch das Geburtsgewicht der Jungtiere. Auch dieses Ergebniss entspricht den Erwartungen.

Laurien- Kehnen (2002) zeigt daß Jungtiere restriktierter Mütter signifikant leichter geboren werden als Jungtiere ad libitum gefütterter Mütter. In dieser Arbeit wird ebenfalls gezeigt, daß der maternale Aufwand bei restriktierten Tieren signifikant unter dem von ad libitum defütterten Weibchen liegt. Das konnte hier nicht bestätigt werden.

Ebihara et al. (1986) und Dixon et al. (1966) zeigen, das injiziertes KLH bei Mäusen (Ebihara et al., 1986), Ratten und Hasen (Dixon et al., 1966) und Meerschweinchen (Ryan et al., 1982) eine robuste Immunantwort hervorruft, jedoch nicht zu einer Erkrankung der Tiere mit den für eine Infektion typischen Symptomen führt.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen, daß KLH ein sehr mildes Antigen ist. Es führt bei den Versuchstieren nicht zu Symptomen die auf eine Erkrankung hinweisen. Symptome wie Fieber oder Lethargie würden sich auf die Nahrungsaufnahme und damit auch auf das Gewicht der Tiere auswirken (Lochmiller et al., 2000; Apianus, 1997). Da sich Gewicht und Nahrungsaufnahme der immunisierten Tiere nicht von nicht immunisierten Kontrolltieren unterscheidet, können derartige Symptome und Erkrankungen höchstens sehr mild und nicht erkennbar aufgetreten sein.

Blutspezifische Parameter

Die blutspezifischen Parameter wie Leukozytenzahlen und weißes Blutbild zeigen bei allen Tieren kaum einen Einfluss der Immunisierung auf diese Parameter. Der leichte Anstieg der Lymphozytenanteile im Blut der Mütter eine Woche nach der ersten Immunisierung weist auf die Produktion von Antikörpern hin. Wie schon in Abschnitt 3.1 gezeigt, weisen sowohl Leukozytenzahlen als auch die Auswertung des weißen Blutbilds sehr hohe Varianzen innerhalb eines Individuums und zwischen den Individuen auf.

Immunologische Parameter

Bei allen immunisierten Tieren war bereits zwei Wochen nach der ersten Immunisierung die Bildung von Antikörpern gegen das injizierte Antigen KLH nachweisbar. Zu diesem Zeitpunkt bestanden keine Unterschiede in der Menge der gebildeten Antikörper gegen das Antigen zwischen den immunisierten Versuchsgruppen (Abb. 3.2.8), also zwischen reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren.

Betrachtet man den Verlauf der Antikörperproduktion (Abb. 3.2.9), so zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen restriktierten und ad libitum gefütterten Tieren. Der Antikörpertiter der restriktierten Tiere verlief über den kompletten Versuchsablauf hinweg unterhalb dessen der ad libitum gefütterten Tiere.

Vergleicht man den Antikörpertiter aller Tiere zum Zeitpunkt der dritten Blutprobe mit dem Titer am Versuchsende (Abb. 3.2.10), so zeigt sich bei allen Gruppen eine signifikante Abnahme der Antikörper. Diese Abnahme unterscheidet sich nicht zwischen den einzelnen Gruppen.

Obwohl die Tragzeit für die Weibchen eine hohe Energieinvestition in den Aufbau von Jungtiermasse bedeutet, scheint diese Investition von Ressourcen bzw. Energie, keine negativen Konsequenzen für die Tiere in Bezug auf die Aufrechterhaltung des Immunsystems zu haben. Trächtige Weibchen bildeten eine mit der von nicht reproduzierenden Tieren identische Immunantwort aus. Die Reproduktion, bzw. die Tragzeit hat keinen Einfluß auf die Immunreaktion der Weibchen.

Die Fähigkeit, eine spezifische Immunantwort auf das injizierte Antigen KLH auszubilden, wird während der Tragzeit nicht negativ beeinflusst. Es kommt anscheinend während der Tragzeit nicht zu einem „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Immunsystem und Reproduktion. Die Weibchen sind in der Lage den erhöhten Energiebedarf während der Tragzeit zu kompensieren.

Eine Möglichkeit zur Kompensation des energetischen Mehrbedarfs an Energie besteht in einer erhöhten Nahrungsaufnahme zum Zeitpunkt der Immunisierung bzw. Antikörperproduktion. Die Produktion von Immunglobulinen der Klasse G beginnt in der zweiten Woche nach der Immunisierung. Zuvor werden bereits Antikörper der Klassen IgA und IgM gebildet. Also sollten bereits direkt nach der ersten Immunisierung Kosten für das Tier für die Bildung der verschiedenen Antikörperklassen entstehen. Es konnte jedoch weder bei trächtigen noch bei nicht reproduzierenden Tieren eine Erhöhung der Nahrungsaufnahme im Vergleich zu den entsprechenden nicht immunisierten Kontrolltieren festgestellt werden.

Eine zweite Möglichkeit zur Kompensation ist, daß die Kosten, die Immunantwort gegen das KLH zu generieren, sehr gering sind, so daß der energetische Mehraufwand der Tiere sehr gering ist und mit der hier angewandten Methode zur Messung

der Energieaufnahme (Nahrungsverbrauch) nicht nachweisbar ist. Allerdings konnte bereits gezeigt werden, dass Infektionen zum Teil hohe Kosten für das infizierte Individuum haben. Beim Menschen wurde gezeigt, daß eine Sepsis zu einer Erhöhung des Ruhestoffwechsels um 30% (Kreymann et al. 1993; Carlson et al., 1997), eine Sichelzellanämie zu einer Erhöhung um 15% führen kann (Borel et al., 1998). Eine Entzündungsreaktion ruft bei Ratten eine Erhöhung des Ruhestoffwechsels um 28% hervor (Cooper et al., 1994). Bei Schafen kann die Infektion mit einem Endotoxin zu einer Stoffwechselerhöhung von 10 bis 49% führen (Fewell et al., 1991; Baracos et al., 1987).

Bei Mäusen konnte gezeigt werden, daß die einmalige Immunisierung mit $150\mu\text{g}$ KLH zu einer Erhöhung der Sauerstoffaufnahme um etwa 25-30% führt (Demas et al., 1997). Die Generierung der Immunantwort hat bei diesen Tieren also deutliche Kosten.

Die in der Studie von Demas et al. (1997) bei Mäusen verwandte Dosis KLH ist im Verhältnis zu deren Körpergröße jedoch deutlich höher als die in dieser Arbeit bei den Meerschweinchen verwandte Dosis ($2 \times 200\mu\text{g}$ KLH) und könnte damit auch deutlich höhere Kosten verursachen. Violetta Pilorz zeigt in ihrer Diplomarbeit (2002), daß bei jungen Meerschweinchen, die im Alter von 3, bzw. 7 und 10 bzw. 14 Tagen mit KLH ($2 \times 200\mu\text{g}$ KLH) immunisiert wurden, der Ruhestoffwechsel der Tiere gegenüber nicht immunisierten Tieren nicht erhöht war. Also führt bei den Jungtieren die Produktion der Antikörper gegen KLH nicht zu im Ruhestoffwechsel nachweisbaren Kosten für die Tiere.

Da es sich bei KLH um ein mildes Antigen handelt, das nicht zu Krankheiten und Entzündungsreaktionen oder Fieber, sondern nur zu einer Bildung von Antikörpern führt (Ebihara et al., 1986; Dixon et al. 1966) entsteht für das mit KLH immunisierte Tier also kein Schaden, wenn es keine Immunantwort ausbildet. Die vorliegenden Daten zeigen, daß die Reaktionsmöglichkeit reproduzierender Tiere nicht eingeschränkt ist. Durch ein ökologisch relevanteres toxisches Antigen, wie bakterielle oder parasitäre Infektionen, würden für das Tier vermutlich höhere Kosten für die Immunantwort sowie Nachteile bei einer nicht erfolgenden Immunreaktion entstehen. Sind die Kosten für die Immunantwort erhöht, würde eine Messung der Nahrungsaufnahme oder die Messung des Ruhestoffwechsels eventuell Unterschiede zwischen nicht immunisierten und immunisierten Tieren zeigen. Der „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Immunsystem und Reproduktion würde dann für das Tier verstärkt werden, bzw. überhaupt erst entstehen.

Es ist bekannt, daß eine Nahrungs- und damit Ressourcen- bzw. Energiebegrenzung das Immunsystem beeinflusst (Lochmiller et al., 2000). Steht den Tieren Energie nur begrenzt zur Verfügung, beeinträchtigt dies deren Fähigkeit eine adäquate Immunantwort auszubilden (Apanius, 1997).

Die vorliegenden Ergebnisse dieser Arbeit sprechen gegen die Annahme, daß die Immunantwort gegen KLH nur sehr geringe oder keine Kosten für die Tiere verursacht. Der Befund, daß die Immunantwort der restriktierten Tiere sowohl bei reproduzierenden als auch bei nicht reproduzierenden Tieren unterhalb der jeweils ad libitum gefütterten Gruppen verläuft spricht dafür, daß auch die Immunantwort gegen das milde Antigen KLH Kosten für die Tiere verursacht. Anscheinend können restriktierte Tiere den Mehrbedarf an Energie für die Immunantwort nicht mehr kompensieren.

Bisher konnte also nachgewiesen werden, daß für die Tiere durch die Immunisierung Kosten entstehen. Allerdings sind sowohl trächtige als auch nicht reproduzierende Weibchen gleichermaßen in der Lage, diese Kosten aufzuwenden.

Die Stärke der Immunantwort, gemessen als Extinktion, ist nicht abhängig vom Reproduktionsstatus der Weibchen. Die Fähigkeit eine Immunantwort gegen ein mildes Antigen wie KLH auszubilden ist bei trächtigen Weibchen nicht reduziert.

3.3 Effekte der Laktation auf die Immunantwort weiblicher Hausmeerschweinchen

3.3.1 Einleitung

Die Laktation stellt für weibliche Säugetiere die energetisch aufwendigste Phase der Reproduktion dar (Loudon et al, 1987; Byers et al, 1990, Hammond et al, 1992; Rogowitz et al, 1995). Für die Mutter entstehen in dieser Zeit höhere Kosten als in der Tragzeit (Hanwell et al., 1977; Gittleman et al., 1988; Clutton-Brock et al., 1989).

Weibliche Hausmeerschweinchen produzieren in der Laktation für große Würfe fast das eigene Körpergewicht an Milch (Hille, 1993). Die Nahrungsaufnahme laktierender Weibchen ist während der ca. 23 Tage andauernden Laktationsphase (Kunkel et al, 1964; Stern et al, 1970; Fullerton, 1974) gegenüber einem nicht reproduzierenden Tier um 92% erhöht. Die Energieaufnahme in dieser Periode ist um das 3,7fache des Basalstoffwechsels gesteigert (Künkele, 2000b).

Die Energiemenge, die das Hausmeerschweinchen während der Laktation in die Jungtiere investiert ist also deutlich höher als während der Tragzeit. Das kann möglicherweise zur Verstärkung des in Kapitel 1 beschriebenen „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Laktation und anderen physiologisch wichtigen Prozessen führen. Hinweise darauf, dass dieser „trade-off“ bei Säugetieren besteht, geben verschiedene Studien, die eine höhere Parasitenlast bei laktierenden Weibchen zeigen (Dickhornschafe: Festa- Bianchet, 1989; Ratten: Connan, 1973). Eine höhere Parasitenlast kann in diesem Fall möglicherweise auf eine reduzierte oder keine Immunabwehr gegen die Parasiten hinweisen. Diese verringerte Immunkompetenz ist dann möglicherweise auf den erhöhten Energieaufwand der Mütter während der Laktation zurückzuführen.

In diesem Teil der vorliegenden Arbeit soll überprüft werden, ob sich die Immunantwort laktierender Weibchen von nicht reproduzierenden Tieren oder trächtigen Weibchen unterscheidet. Dazu werden weibliche Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) zu Beginn der Laktation, am Tag der Geburt der Jungtiere, mit einem Antigen (KLH) behandelt. Die Produktion der Antikörper sollte dann zum Zeitpunkt des Laktationspeaks (Tag 7-10 der Laktation), also dem Zeitpunkt der höchsten Milchproduktion und Übertragung auf die Jungtiere, erfolgen.

Zu diesem Zeitpunkt (Laktationspeak) wendet die Mutter die größte Menge der aufgenommenen Energie für die Produktion von Milch auf. Eine Nahrungsrestriktion in diesem Abschnitt, also eine Limitierung der Ressourcen, könnte zu einer Verstärkung des in Kapitel 1 beschriebenen „trade-off“ zwischen Laktation und an-

deren physiologischen Prozessen führen. Um zu überprüfen, ob dies der Fall ist, wurde eine weitere Tiergruppe laktierender Weibchen unter Nahrungsrestriktion gehalten. Hier soll getestet werden, ob sich die Immunantwort während der Laktation unter begrenzter Energieverfügbarkeit (Nahrungsknappheit) von der Immunantwort nicht restriktierter Tiere unterscheidet.

3.3.2 Methode

Bei den Versuchstieren handelt es sich um Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) aus der Zucht der Universität Bielefeld. Haltung und Nahrungskonditionen sind in Abschnitt 2.1.1 beschrieben.

Die Versuchstiere wurden wie in Abschnitt 2.2.1 erläutert immunisiert. Blutproben wurden den Tieren aus der Ohrvene entnommen. Es wurden jeweils die Leukozytenzahl bestimmt und ein differentielles Blutbild erstellt. Die Methodik dazu ist in Abschnitt 2.2.5 und 2.2.6 dargestellt. Aus jeder Blutprobe wurde der Antikörpertiter mit Hilfe des ELISA ermittelt. Der Test ist in Abschnitt 2.2.4 beschrieben.

Tabelle 3.3.1: Versuchsreihen (Trag.: Tragzeit Lak.: Laktation; ad lib.: ad libitum; restr.: restriktiert). Die Bezeichnung der Reihen setzt sich aus Reproduktionsstatus (r: Tragzeit; nr: nicht reproduzierend; lak: Laktation), der Immunisierung (i: immunisiert; ni: nicht immunisiert) und der Futterkondition (a: ad libitum; r: restriktiert) zusammen. Zahlen in Klammern geben die Stichprobengröße an, bei der alle Parameter gemessen wurden (In Ansatz 1 (siehe Tabelle 2.2) wurden keine Leukozytenzahlen gemessen und kein Diff. Blutbild erstellt.)

Kategorie	Bezeichnung	Repro- duktion	Immuni- sierung	Tag der Immunisierung	Futter- kondition	N
Versuch I	r i a	+	+	Tag 40 Tr.	Ad lib.	16(8)
Versuch I	r i r	+	+	Tag 40 Tr.	Restr.	10
Kontrolle I	r ni a	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Ad lib.	18 (8)
Kontrolle I	r ni r	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Restr.	10
Kontrolle II	nr i a	-	+	107. LT	Ad lib.	8
Kontrolle II	nr i r	-	+	107. LT	Restr.	8
Kontrolle III	nr ni a	-	-	NaCl 107. LT	Ad lib.	8
Kontrolle III	nr ni r	-	-	NaCl 107. LT	Restr.	8
Versuch II	lak i a	+	+	Tag 1 Lak.	Ad lib.	10
Versuch II	lak i r	+	+	Tag 1 Lak.	Restr.	10

Die Auswertung der verschiedenen untersuchten Parameter zur Kondition und Immunantwort der Tiere erfolgt mittels Varianzanalysen (ANOVA). In diese Analysen gehen jeweils Reproduktions- (1: Tragzeit, 2: nicht reproduzierend, 3: Laktation),

Immunisierungs- (1: immunisiert, 2. nicht immunisiert) und Futterstatus (1. ad libitum, 2: restriktiert) als unabhängige Variablen ein. Als abhängige Daten gehen die gemessenen Daten in die Analyse ein. Die Ergebnisse der ANOVA sind in den Tabellen 3.3.2 und 3.3.3 aufgetragen. Auch wenn in den folgenden Abbildungen verschiedene Gruppen zu einer zusammengefasst sind (z.B.: Gewichte der Weibchen), gehen in die Analyse die Einzelgruppen ein (siehe Tab. 3.3.1). Um eine ausgeglichene Datenstruktur zu erhalten wurden jeweils die Hälfte der Kontrolltiere aus den Gruppen r ni a und r ni r den Tieren zugeordnet die in der Tragzeit immunisiert wurden. Die zweite Hälfte der Tiere wurde als Kontrollgruppe den während der Laktation immunisierten Tieren zugewiesen.

3.3.3 Ergebnisse

Bisher (3.2) konnte gezeigt werden, daß sich die Immunantwort von in der Tragzeit immunisierten Hausmeerschweinchen nicht von der Immunantwort nicht reproduzierender Weibchen unterscheidet. Die Immunisierung hatte keinen Einfluß auf die gemessenen Konditions- Parameter der Tiere. Im Folgenden soll überprüft werden, ob sich die Immunantwort von während der Laktation immunisierten Weibchen von den nicht reproduzierenden oder in der Tragzeit immunisierten Tieren unterscheidet. Dazu werden zunächst wiederum die konditionellen Parameter der Mütter untersucht. Darauf folgt die Auswertung zur Immunantwort.

3.3.3.1 Konditionelle Parameter

Während der Tragzeit und der Laktation zeigt sich ein signifikanter Unterschied im Gewicht (Abb.3.3.1) zwischen reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren (siehe Tabelle 3.3.2). Der Immunisierungsstatus hatte im Gegensatz zum Futterstatus keinen Einfluss auf das Gewicht der Weibchen. Das Gewicht restriktierter Weibchen lag signifikant unter dem der ad libitum gefütterten Tiere. Die Gewichte der in der Tragzeit immunisierten Tiere unterschieden sich nicht vom Gewicht der in der Laktation immunisierten Tiere (HSD-posthoc Test, $p > 0,05$).

In Abbildung 3.3.1 sind die in der Tragzeit immunisierten und während der Reproduktion nicht immunisierten Tiere in Abhängigkeit zu vom Futterstatus zu jeweils einer Gruppe zusammengefasst (Tragzeit adlib.: Gruppen r i a, r ni a; Tragzeit restr.: r i r, r ni r), da zuvor gezeigt werden konnte, daß sich die Gewichte dieser Tiere nicht voneinander unterschieden (siehe Abb. 3.2.2)

Die folgende Tabelle (3.3.2) zeigt alle die Ergebnisse der Varianzanalyse der Gewichte und der im folgenden dargestellten Ergebnisse, die die konditionellen Parameter der Versuchstiere betreffen.

Tabelle 3.3.2: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für Konditionsparameter. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs- und Futterstatus; abhängige Variablen: Versuchstag(e). Int.: Interaktion (nur signifikante Interaktionen angegeben). Für jeden Parameter wurde eine eigene Analyse erstellt.

Parameter	Effekt	FG	FG Fehler	F	p
Gewicht Mutter Tragzeit	1.Reproduktion	2	93	168,350	<0,001
	2.Immunisierung	1	93	0,7987	0,3738
	3.Futter	1	93	4,5174	0,036
	4.Tage (Verlauf)	7	658	184,520	<0,001
	Int. 1. & 4.	14	658	24,54	<0,001
	Int. 3. & 4.	7	658	8,794	<0,001
Gewicht Mutter Laktation	1.Reproduktion	2	93	8,283	<0,001
	2.Immunisierung	1	93	0,013	0,909
	3.Futter	1	93	7,553	0,007
	4.Tage (Verlauf)	24	2256	5,284	<0,001
	Int. 1. & 3.	2	93	3,867	0,024
	Int. 1. & 4.	48	2256	3,057	<0,001
	Int. 1., 3. & 4.	48	2256	5,020	<0,001
Wachstum Mutter	1.Reproduktion	2	94	13,539	<0,001
	2.Immunisierung	1	94	0,718	0,399
	3.Futter	1	94	0,003	0,960
	Int. 1. & 3.	2	94	9,783	<0,001
Nahrungsverbrauch Mutter Tragzeit	1.Reproduktion	2	92	28,402	<0,001
	2.Immunisierung	1	92	0,107	0,744
	3.Futter	1	92	39,991	<0,001
	4.Tage (Verlauf)	7	651	1,887	0,069
Nahrungsverbrauch Mutter Laktation	1.Reproduktion	2	93	127,41	<0,001
	2.Immunisierung	1	93	2,983	0,088
	3.Futter	1	93	15,037	<0,001
	4.Tage (Verlauf)	24	2256	33,237	<0,001
	Int. 1. & 4.	48	2256	11,863	<0,001
maternaler Aufwand	1.Immunisierung	1	70	0,016	0,898
	2.Futter	1	70	0,305	0,582
Geburtsgewicht	1.Immunisierung	1	70	1,298	0,258
Jungtiere	2.Futter	1	70	29,903	<0,001
natürliche	1.Immunisierung	1	69	0,641	0,426
Wurfgröße	2.Futter	1	69	1,320	0,255
tatsächliche	1.Immunisierung	1	69	0,005	0,945
Wurfgröße	2.Futter	1	69	0,202	0,654
Geschlechter- verhältnis	1.Immunisierung	1	69	1,426	0,237
	2.Futter	1	69	0,064	0,801
Mortalität	1.Immunisierung	1	69	1,497	0,225
Jungtiere	2.Futter	1	69	1,324	0,254

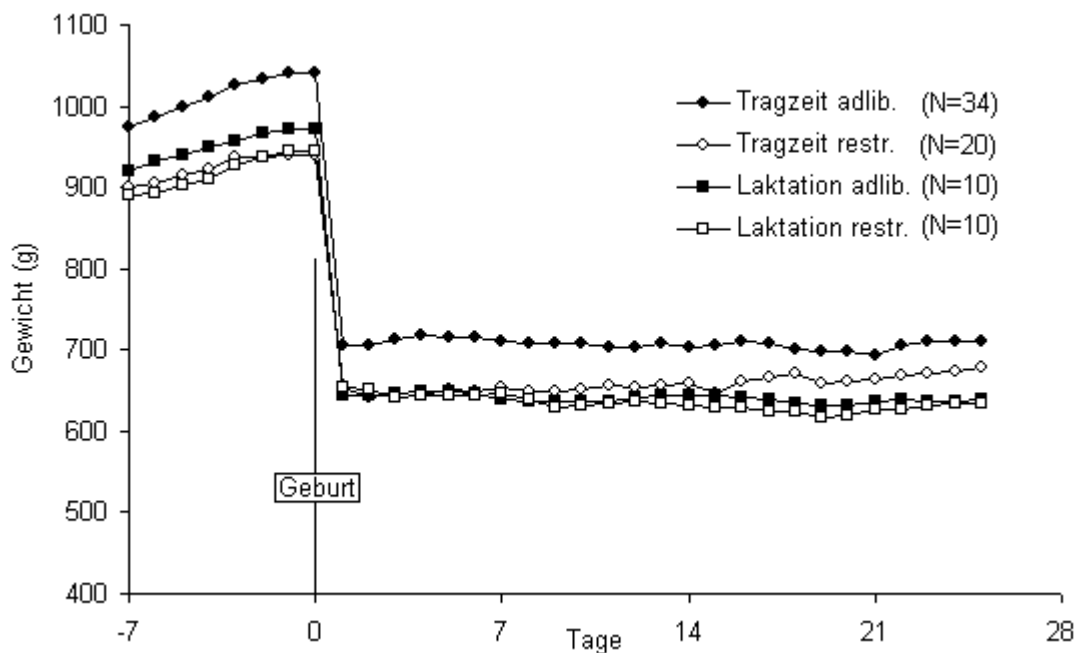


Abbildung 3.3.1: (Gewicht der Versuchswelbchen (Mittel \pm SE). An Tag 40 der Tragzeit immunisierte und nicht immunisierte Tiere sind in der Gruppe „Tragzeit“ zusammengefasst. (Statistik im Text).

Abbildung 3.3.2 zeigt das Wachstum der Tiere. Dieses wurde errechnet aus dem Gewicht am Ende des Versuchs abzüglich dem Gewicht bei Konzeption (reproduzierende Weibchen) bzw. dem Gewicht bei Versuchsbeginn (nicht reproduzierende Weibchen). Die statistische Analyse zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren (siehe Tabelle 3.3.2). Reproduzierende Weibchen nahmen über den Versuch hinweg signifikant mehr Gewicht zu als nicht reproduzierende Tiere. Die Zunahme der während der Tragzeit behandelten Tiere (Gruppen *r i a*, *r i r*, *r ni a* und *r ni r*) unterschied sich nicht von der Zunahme der in der Laktation behandelten Tiere (*lak i a* und *lak i r*). Weder Immunisierungs- noch Futterstatus hatten einen nachweisbaren Einfluß auf das Wachstum der Tiere. In der folgenden Abbildung 3.3.2 sind die Gruppen *r i a*, *r i r*, *r ni a* und *r ni r* (siehe Tab. 3.3.1) zur Gruppe „Tragzeit“, die Gruppen *nr i a*, *nr i r*, *nr ni a* und *nr ni r* zur Gruppe „nrepro“ zusammengefasst, da sich diese Gruppen jeweils nicht voneinander unterschieden (siehe Abb. 3.2.3)

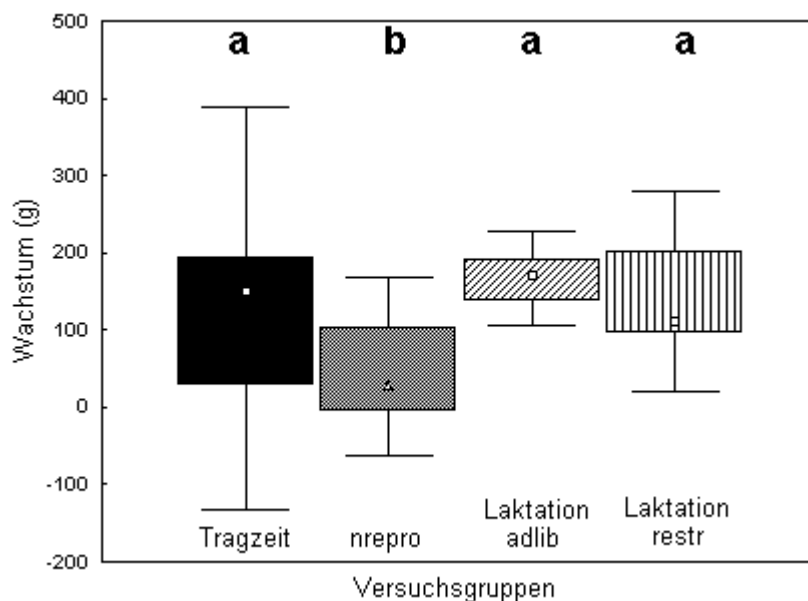


Abbildung 3.3.2: Wachstum der Weibchen (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Die Gruppen „Tragzeit“ und „nrepro“ (nicht reproduzierend) enthalten jeweils immunisierte und nicht immunisierte Tiere. Die Stichprobengrößen sind in Tabelle 3.3.1 dargestellt. (unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Werte) (Statistik im Text).

Sowohl in Tragzeit als auch in der Laktation unterschied sich der Nahrungsverbrauch der reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren signifikant voneinander (siehe Tab. 3.3.2). Der Nahrungsverbrauch der während der Laktation immunisierten Tiere unterschied sich weder in der Tragzeit noch in der Laktation von dem der während der Tragzeit immunisierten oder nicht immunisierten Tiere (HSD-posthoc Test, $p > 0,05$). Beide Gruppen unterschieden sich jeweils signifikant von den nicht reproduzierenden Tieren (HSD-posthoc Test, $p < 0,05$). Der Nahrungsverbrauch der restriktierten Tiere lag bei allen Gruppen versuchsbedingt signifikant unter dem der ad libitum gefütterten Tiere. Der Immunisierungsstatus hatte keinen Einfluß auf die Nahrungsaufnahme.

In der folgenden Abbildung (3.3.3) wird der Nahrungsverbrauch pro Gramm Körpergewicht pro Tag der während der Tragzeit behandelten, ad libitum gefütterten Tiere (r i a, r n i a) und der während der Tragzeit behandelten restriktierten Tiere (r i r, r n i r) im Vergleich zu den während der Laktation immunisierten Tieren dargestellt. Die Nahrungsaufnahme der restriktierten Tiere lag während Tragzeit und Laktation versuchsbedingt signifikant unter der Nahrungsaufnahme der ad libitum gefütterten Weibchen (siehe Tab. 3.3.2). Die Nahrungsaufnahme der während der Laktation behandelten Weibchen unterschied sich nicht von den während der Tragzeit behandelten Tiere. Der Nahrungsbedarf aller reproduzierenden Tiere unterschied sich signifikant von den nicht reproduzierenden Tieren. Die Immunisierung hatte auch

hier keinen nachweisbaren Einfluß auf den Nahrungsverbrauch.

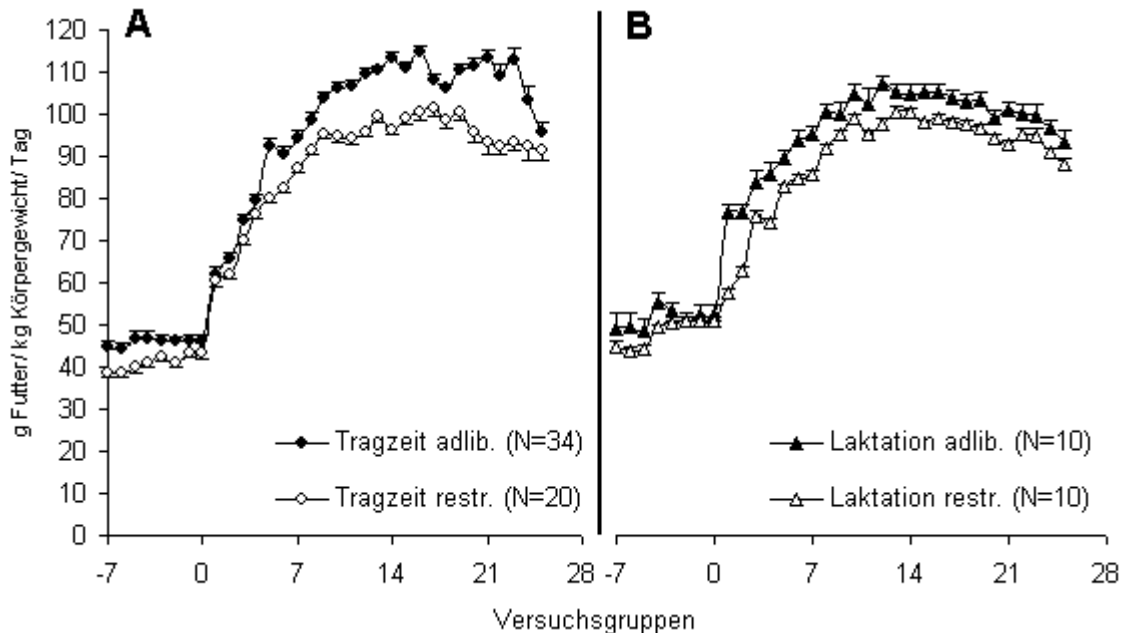


Abbildung 3.3.3: Nahrungsaufnahme der Weibchen (Mittel \pm SE). A: in der tragezeit behandelte Tiere; B: während der Laktation immunisierte Tiere (Statistik im Text).

Die folgende Abbildung (3.3.4) zeigt den maternalen Aufwand der Tiere in den unterschiedlichen Tiergruppen. Dabei sind jeweils die in der Tragezeit behandelten, ad libitum gefütterten Tiere (r i a, r ni a) und die in der Tragezeit behandelten, restriktierten Tiere (r i r, r ni r) zusammengefasst und den in der Laktation immunisierten ad libitum gefütterten und restriktierten Tieren gegenübergestellt. Zuvor konnte bereits ezeigt werden, daß sich der maternale Aufwand der Tiere dieser zusammengefaßten Gruppen nicht unterschied (siehe Abb. 3.2.5). In die statistische Analyse gehen die einzelnen Tiergruppen (nicht zusammengefasst) ein. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich Immunisierungs- oder Futterstatus (siehe Tab.3.3.2). Der maternale Aufwand unterschied sich also nicht zwischen den einzelnen Gruppen.

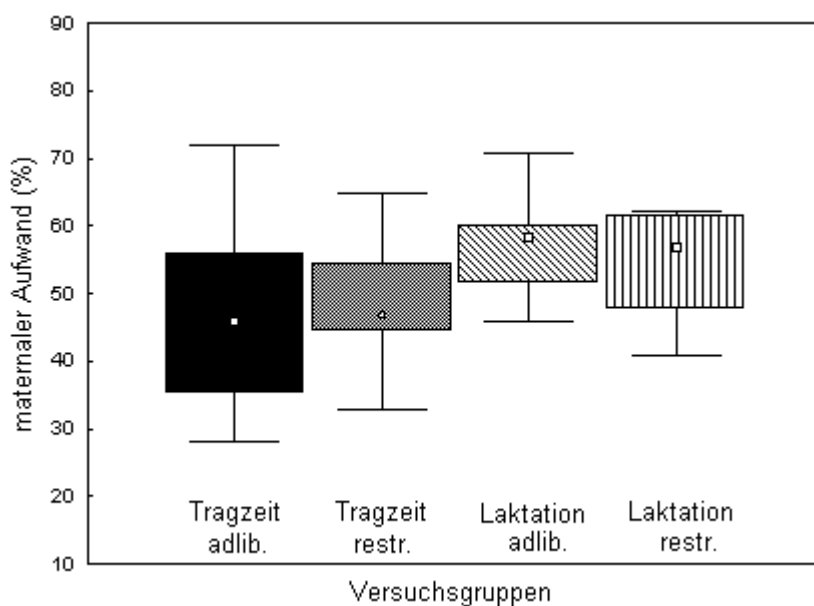


Abbildung 3.3.4: Maternaler Aufwand (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Es bestehen keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Stichprobengrößen sind in Tabelle 3.3.1 dargestellt. (Statistik im Text)

Betrachtet man das Geburtsgewicht der Jungtiere, so zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Jungtiere ad libitum gefütterter, in der Tragzeit behandelte Weibchen kommen signifikant schwerer zur Welt als Jungtiere restriktierter Weibchen (Tab. 3.3.2). Dieser Zusammenhang ist in Abb. 3.2.6 und Abb. 3.3.5 dargestellt. Der Immunisierungsstatus der Mutter hatte keinen Einfluss auf das Geburtsgewicht der Jungtiere. Die Jungtiere der während der Laktation immunisierten Mütter unterschieden sich nicht zwischen ad libitum gefütterten und restriktierten Müttern (HSD-posthoc Test, $p > 0,05$). Das war allerdings auch nicht zu erwarten, da die Restriktion der Mütter erst bei der Geburt der Jungtiere beginnt.

Die statistische Analyse der natürlichen Wurfgröße bei Geburt und effektiver Wurfgröße (Überlebende) zeigte keine Unterschiede zwischen allen Gruppen. Das heißt, weder Immun- noch Futterstatus beeinflussten die Wurfgröße (Tab. 3.3.2). In der folgenden Abbildung sind alle in der Tragzeit behandelten Tiere (Gruppen r i a, r i r, r n i a, r n i r) zur Gruppen „Tragzeit“ zusammengefasst und den Wurfgrößen der in der Laktation immunisierten Müttern gegenübergestellt.

Die Würfe der unterschiedlichen Versuchsgruppen unterschieden sich ebenfalls nicht bezüglich Mortalität und Geschlechterverhältnis (Tab. 3.3.2).

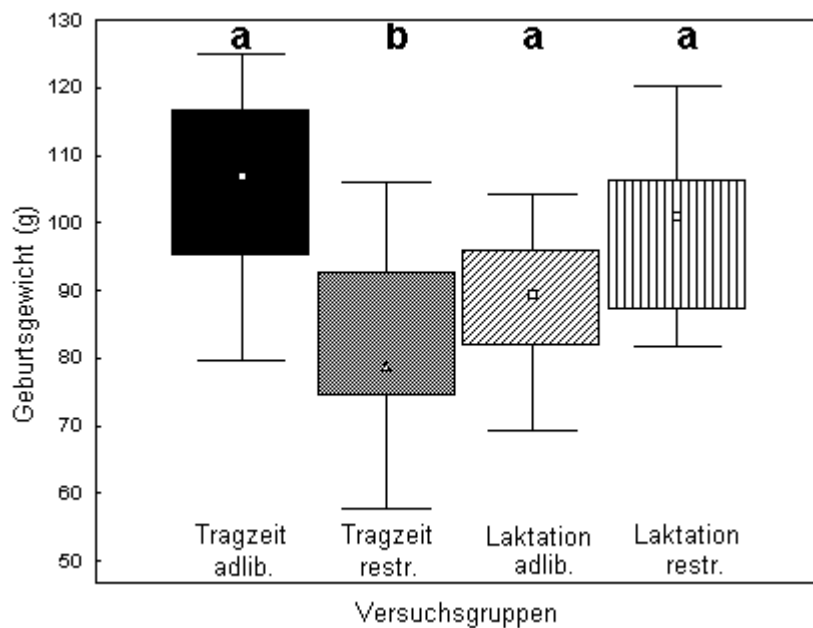


Abbildung 3.3.5: Geburtsgewicht der Jungtiere (Median: Box, 25% 75%: Whisker)(unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Werte). (Statistik im Text).

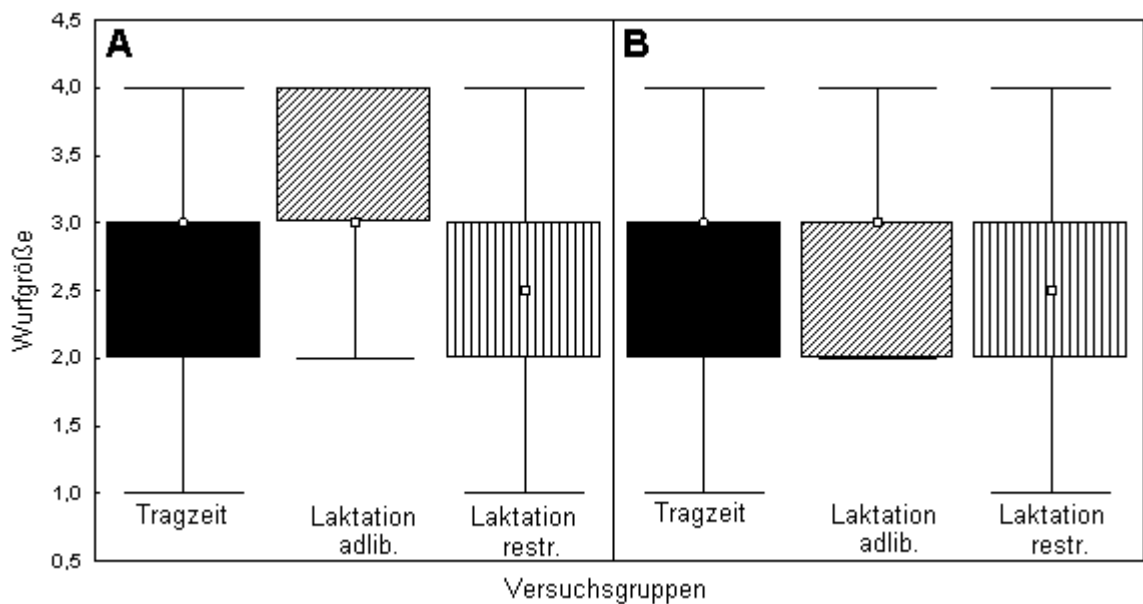


Abbildung 3.3.6: Natürliche (A) und tatsächliche (B) (überlebende Jungtiere) Wurfgröße (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Weder natürliche noch tatsächliche Wurfgröße unterscheiden sich zwischen den Gruppen (Statistik im Text).

Wie schon in Abschnitt 3.2 gezeigt wurde hatte auch in diesem Versuch die Immunisierung der Weibchen keinen Einfluß auf die gemessenen konditionellen Parameter. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren entweder durch die Nahrungsrestriktion oder den Reproduktionsstatus der Tiere bedingt.

3.3.3.2 Immun/Blut spezifische Parameter

Die folgende Abbildung 3.3.7 zeigt die bei der dritten Blutprobe gemessene Extinktion der Tiergruppen. In der Gruppe „Tragzeit“ sind die Tiere der Versuchsgruppen *r i a* und *r i r*, in der Gruppe der nicht reproduzierenden Tiere die Versuchsgruppen *nr ia* und *nr i r* zusammengefasst. Daß sich diese Gruppen nicht voneinander unterscheiden, konnte bereits nachgewiesen werden (siehe Abb. 3.2.8). Die bei den letzten beiden Gruppen gemessene Extinktion lag signifikant unter der Extinktion der trächtigen und nicht reproduzierenden Tiere (siehe Tab. 3.3.3). Die zu diesem Zeitpunkt gemessene Extinktion unterschied sich nicht zwischen den zwei während der Laktation immunisierten Versuchsgruppen (HSD- posthoc Test, $p > 0,05$). Die Nahrungsverfügbarkeit hatte, im Gegensatz zum Reproduktionsstatus, keinen Einfluß auf die Immunantwort zu diesem Zeitpunkt.

In der Analyse wurden Proben von während der Tragzeit immunisierten und nicht reproduzierenden, immunisierten Tieren auf der gleichen Mikrotiterplatte analysiert, so daß ein Effekt der Analyse oder ein Fehler in der Analyse auf das vorliegende Ergebnis ausgeschlossen werden kann.

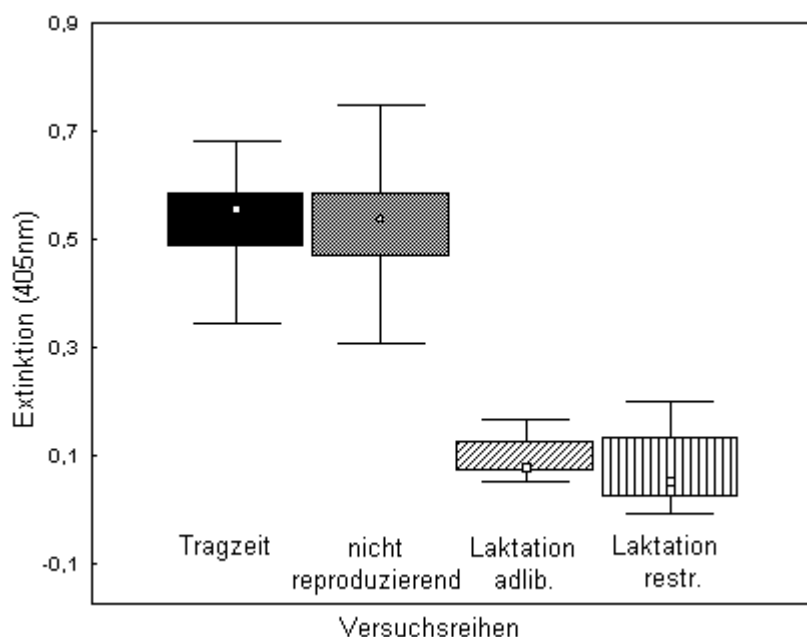


Abbildung 3.3.7: Extinktion gemessen in der dritten Blutprobe (Tag -14 und Tag 14) (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Die Extinktion der in der Laktation behandelten Tiere lag signifikant unter der der während der Tragzeit behandelten und nicht reproduzierenden Tiere. Die Stichprobengrößen sind in Tabelle 3.3.1 abgebildet. (Statistik im Text)

Trägt man die bei den einzelnen Weibchen der Gruppen lak i a und lak i r gemessene Extinktion zu diesem Zeitpunkt auf (Abb. 3.3.8), so zeigt sich das folgende Bild: Die Werte der ad libitum gefütterten Weibchen lagen zwischen 0,05 und 0,2. Die Werte der restriktierten Tiere streuten über einen Bereich von -0,01 bis 0,2. Trägt man das mittlere bei nicht immunisierten Tieren in der ELISA gemessenen Hintergrundrauschen, das durch unspezifische Bindungen hervorgerufen wurde, und dessen Minimum und Maximum auf, so zeigt sich, daß sich die Extinktion aller ad libitum gefütterten Tiere oberhalb dieses Maximums befand. Die Werte von vier Weibchen, die restriktiert waren, lagen jedoch unterhalb dieses Werts. Sie generierten also zu diesem Zeitpunkt keine vom Hintergrundrauschen unterscheidbare Immunantwort. Nur sechs Weibchen dieser Gruppe zeigten eine Immunantwort die oberhalb dieses Maximums liegt.

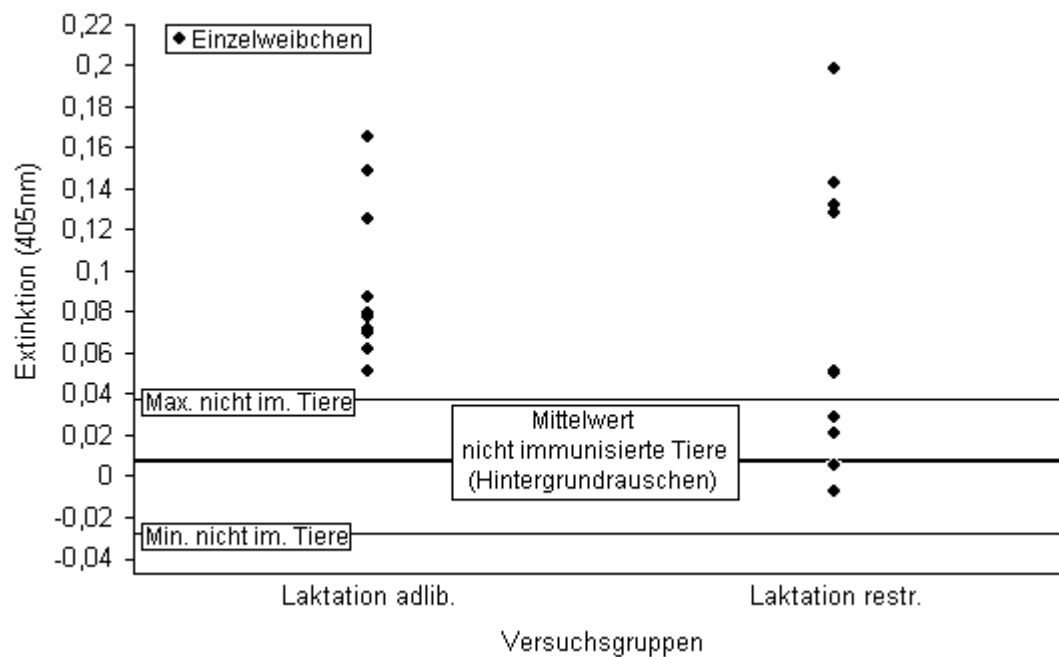


Abbildung 3.3.8: Extinktionswerte der Einzelweibchen aus den Gruppen lak i a und lak i r. (Statistik im Text).

Abbildung 3.3.9 zeigt den über den Versuchablauf gemessenen Verlauf der Extinktion. Die verschiedenen Reproduktionsgruppen unterschieden sich signifikant voneinander (siehe Tab.3.3.3). Dabei unterschieden sich die in der Tragzeit immunisierten Tiere signifikant von den in der Laktation immunisierten Tieren (HSD- posthoc Test, $p < 0,05$) jedoch nicht von den nicht reproduzierenden Tieren (HSD- posthoc Test, $p > 0,05$). Der Futterstatus der Gruppen hat ebenfalls einen signifikanten Einfluss (siehe Tab.3.3.3). Die Immunantwort der restriktierten Tiere verlief konstant unterhalb der bei den ad libitum gefütterten Tieren gemessenen Extinktion.

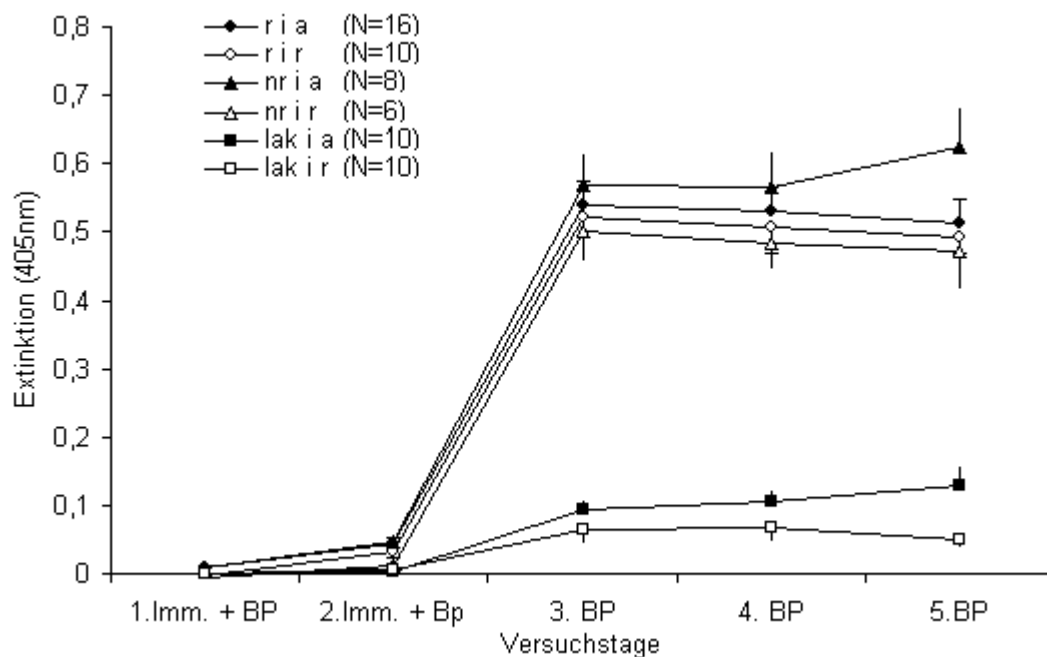


Abbildung 3.3.9: Gemessene Extinktion der Serumproben im Verlauf des Versuchs (Mittel \pm SE). (Statistik im Text).

Die folgende Abbildung 3.3.10 zeigt die Änderung der Extinktion. Diese wird errechnet aus der Extinktion zum Zeitpunkt der fünften abzüglich der bei der dritten Blutentnahme gemessenen Extinktion. Ein negativer Wert bedeutet also eine Abnahme der Extinktion über die Zeit gesehen, ein positiver Wert bedeutet eine Zunahme der Extinktion, und damit einen Aufbau der produzierten Antikörper. Die Abbildung zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Tiergruppen in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus (Tab. 3.3.3). Die in der Tragzeit behandelten Weibchen bauten in diesem Zeitraum schon Antikörper ab, wohingegen die nicht reproduzierenden Tiere und die in der Laktation immunisierten Tiere weder Antikörper produzierten noch abbauten. Die in der Tragzeit behandelten Tiere unterschieden sich signifikant von den anderen zwei Gruppen (HSD- posthoc Test, $p < 0,05$). Die Werte der nicht reproduzierenden Tiere unterschieden sich nicht von denen der während der Laktation immunisierten Tiere (HSD- posthoc Test, $p > 0,05$). Der Futterstatus beeinflusste die Änderung der Extinktion nicht nachweisbar.

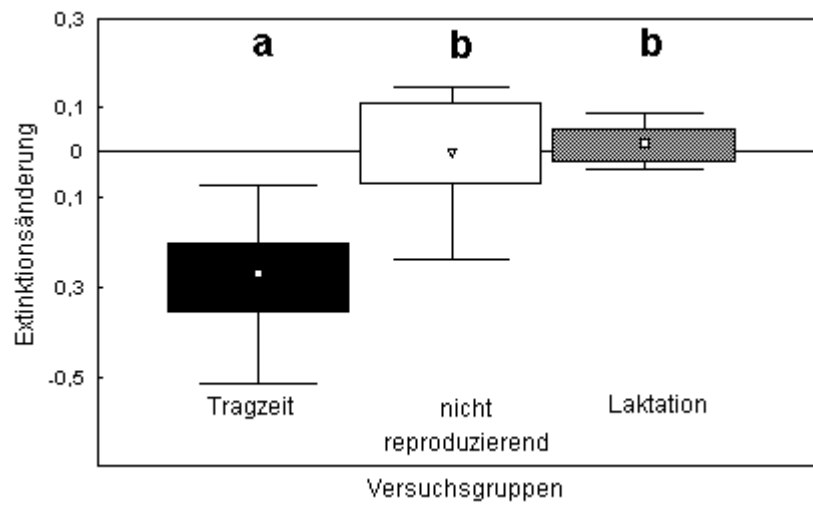


Abbildung 3.3.10: Änderung der Extinktion von der dritten bis zur fünften Blutprobe (Median: Box, 25% 75%: Whisker) (unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Werte). (Statistik im Text).

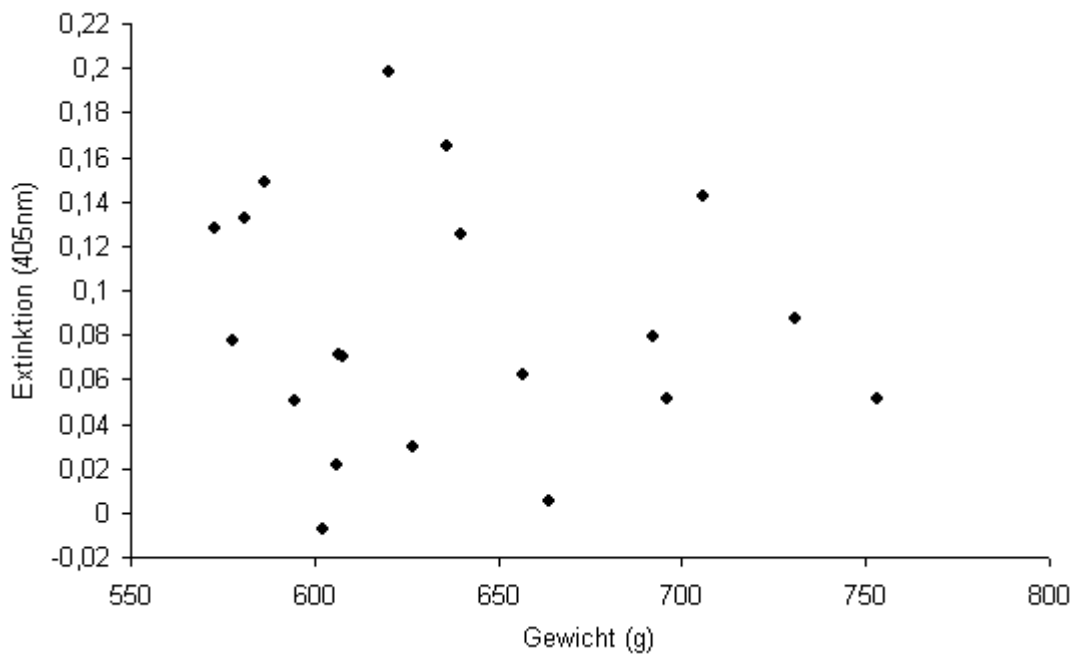


Abbildung 3.3.11: Gewicht zum Zeitpunkt der dritten Blutprobe bezogen auf die zu diesem Zeitpunkt gemessene Extinktion. Es besteht keine Korrelation zwischen den beiden Parametern (Statistik im Text).

Abbildung 3.3.11 zeigt die zum Zeitpunkt der dritten Blutprobe gemessene Extink-

tion, also die Menge der produzierten Antikörper in Bezug auf das Gewicht der Weibchen zu diesem Zeitpunkt. Es bestand keine Korrelation zwischen den beiden Parametern (Pearson Korrelation; $N=20$; $r=-0,162$; $p=0,494$). Die Menge der produzierten Antikörper war also, wie auch schon in Abb. 3.2.12 gezeigt, unabhängig vom Gewicht der Weibchen.

Betrachtet man die Anzahl der Leukozyten der Versuchsgruppen über den Verlauf der Versuche hinweg, so zeigt sich kein Unterschied zwischen den Gruppen (siehe Tab. 3.3.3). Die Versuchstage unterschieden sich signifikant, das bedeutet die Anzahl der Leukozyten ändert sich bei allen Versuchsgruppen über den Versuchsablauf. Dabei hatten jedoch weder Reproduktions- noch Immunisierungs- und Futterstatus einen Einfluß auf diese Änderung (keine Interaktion).

In der folgenden Abb. 3.3.12 sind jeweils alle während der Tragzeit behandelten Tiergruppen (r i a, r i r, r ni a, r ni r), alle nicht reproduzierenden Gruppen (nr i a, nr i r, nr ni a, nr ni r) und alle während der Laktation behandelten Tiere (lak i a, lak i r) zusammengefaßt, da sich die Tiere in diesen Gruppen nicht voneinander unterscheiden.

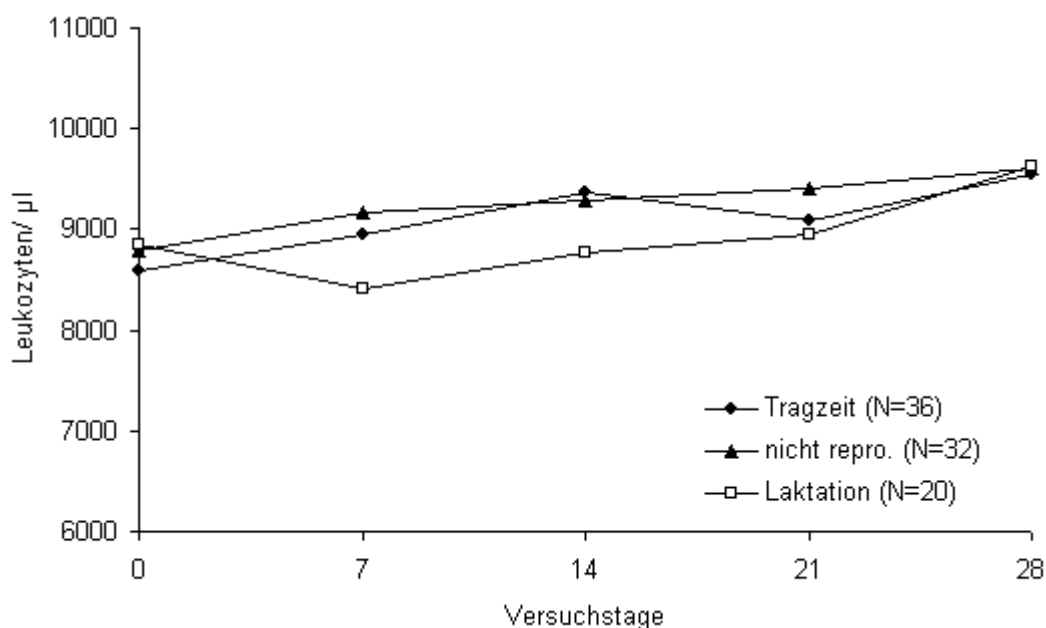


Abbildung 3.3.12: Leukozytenzahlen der Weibchen (Mittel). Die Standardabweichung ist der Übersichtlichkeit halber aufgrund ihrer Größe nicht dargestellt. Die Gruppen unterscheiden sich nicht voneinander (Statistik im Text).

Tabelle 3.3.3: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für Blut-/ Immunologische Parameter. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs- und Futterstatus; abhängige Variablen: Versuchstag(e). Int.: Interaktion zwischen zwei Parametern (nur signifikante Interaktionen angegeben). Für jeden Parameter wurde eine eigene Analyse erstellt.

Parameter	Effekt	FG	FG Fehler	F	p
Extinktion	1.Reproduktion	2	54	52,234	<0,001
3. Blutprobe	2.Futter	1	54	1,720	0,195
Extinktion	1.Reproduktion	2	54	74,031	<0,001
Verlauf	2.Futter	1	54	6,053	0,017
	3.Tage (Verlauf)	4	216	99,177	<0,001
	Int. 1. & 3.	8	216	33,399	<0,001
Extinktions- änderung	1.Reproduktion	2	54	16,816	<0,001
	2.Futter	1	54	0,780	0,381
Leukozyten	1.Reproduktion	2	76	0,137	0,872
	2.Immunisierung	1	76	1,064	0,306
	3.Futter	1	76	1,098	0,198
	4.Tage (Verlauf)	4	304	4,864	<0,001

Wie schon in Kapitel 3.2 gezeigt, unterscheidet sich das differentielle weiße Blutbild der Tiere aller Versuchsgruppen zu Beginn der Versuche in keinem der untersuchten Zelltypen (Tab.3.3.4). Alle Tiere starten also mit dem jeweils gleichen Anteil an Kurloff Zellen, Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten.

Tabelle 3.3.4: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für die Zelltypen des differentiellen weißen Blutbilds am 50. Lebenstag der Versuchswelbchen. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs- und Futterstatus. Für jeden Zelltyp wurde eine eigene Analyse erstellt.

Zelltyp	FG	FG Fehler	F	p
Kurloff Zellen	9	78	1,314	0,243
basophile Granulozyten	9	78	1,407	0,200
eosinophile Granulozyten	9	78	1,690	0,376
neutrophile Granulozyten	9	78	1,267	0,268
Lymphozyten	9	78	1,742	0,093
Monozyten	9	78	1,165	0,329

Die folgende Tabelle 3.3.5 zeigt die Ergebnisse der Varianzanalyse der drei jeweils ausgewerteten Blutaussstriche (1. Immunisierung und Blutprobe, 2. Immunisierung und Blutprobe und 3. Blutprobe.)

Tabelle 3.3.5: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für die Zelltypen des differentiellen weißen Blutbilds. Unabhängige Variablen: Reproduktions-, Immunisierungs-, Futterstatus und Verlauf (Versuchstage) Versuchstage sind 1.Immunisierung und Blutprobe, 2. Immunisierung und Blutprobe und 3. Blutprobe. Für jeden Zelltyp wurde eine eigene Analyse erstellt. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte über alle Tiere und Tage.

Zelltyp	Mittel	Effekt	FG			
	±SD		FG	Fehler	F	p
Kurloff	0,462	1.Reproduktion	1	76	3,30	0,042
Zellen	±0,0,592 siehe Abb.	2.Immunisierung	1	76	1,31	0,256
		3. Futter	1	76	0,69	0,408
		4.Verlauf (Tage)	2	152	0,45	0,638
basophile	0,542	1.Reproduktion	1	76	0,86	0,428
Granulozyten	±0,592	2.Immunisierung	1	76	1,10	0,297
		3. Futter	1	76	0,99	0,322
		4.Verlauf (Tage)	2	152	0,70	0,498
eosinophile	1,930	1.Reproduktion	1	76	2,10	0,130
Granulozyten	±0,870	2.Immunisierung	1	76	0,21	0,645
		3. Futter	1	76	3,07	0,084
		4.Verlauf (Tage)	2	152	0,87	0,419
neutrophile	16,62	1.Reproduktion	1	76	1,08	0,346
Granulozyten	±4,64 siehe Abb.	2.Immunisierung	1	76	0,09	0,759
		3. Futter	1	76	0,11	0,737
		4.Verlauf (Tage)	2	152	4,76	0,009
Lymphozyten	78,21 ±5,34 siehe Abb.	1.Reproduktion	1	76	2,51	0,088
		2.Immunisierung	1	76	0,04	0,832
		3. Futter	1	76	0,78	0,379
		4.Verlauf (Tage)	2	152	3,98	0,053
Monozyten	2,23 ±0,95	1.Reproduktion	1	76	2,49	0,090
		2.Immunisierung	1	76	0,19	0,661
		3. Futter	1	76	0,94	0,335
		4.Verlauf (Tage)	2	152	1,24	0,294

Es zeigt sich, daß der Anteil der Kurloff Zellen zwischen den Versuchsgruppen signifikant unterschiedlich war. Die während der Tragzeit behandelten Tiere (Tragzeit: r i a, r i r, r ni a, r ni r) zeigten einen nahezu doppelt so hohen Anteil an Kurloff Zellen als nicht trächtige Weibchen (nicht reproduzierend: nr i a, nr i r, nr ni a, nr ni r) und während der Laktation behandelte Weibchen (Laktation: lak i a, lak i r) (Tab.3.3.5). Dabei unterschieden sich die nicht reproduzierenden Weibchen nicht von den während der Laktation behandelten Tieren (HSD- posthoc Test, $p > 0,05$).

Weder Immunisierung noch Futterstatus beeinflussten den Anteil der Zellen im Blutbild. Der Anteil änderte sich nicht über die drei ausgewerteten Ausstriche. In Abb. 3.3.13 sind daher für die Versuchsgruppen jeweils Mittel über die drei Zeitpunkte (1. Immunisierung und Blutprobe, 2. Immunisierung und Blutprobe und 3. Blutprobe) erstellt worden.

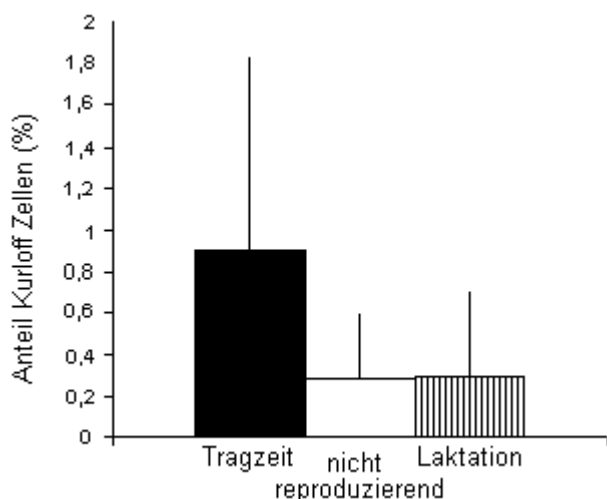


Abbildung 3.3.13: Anzahl der Kurloff Zellen (%-Anteil der Leukozyten)(Mittel \pm SE). (Statistik im Text).

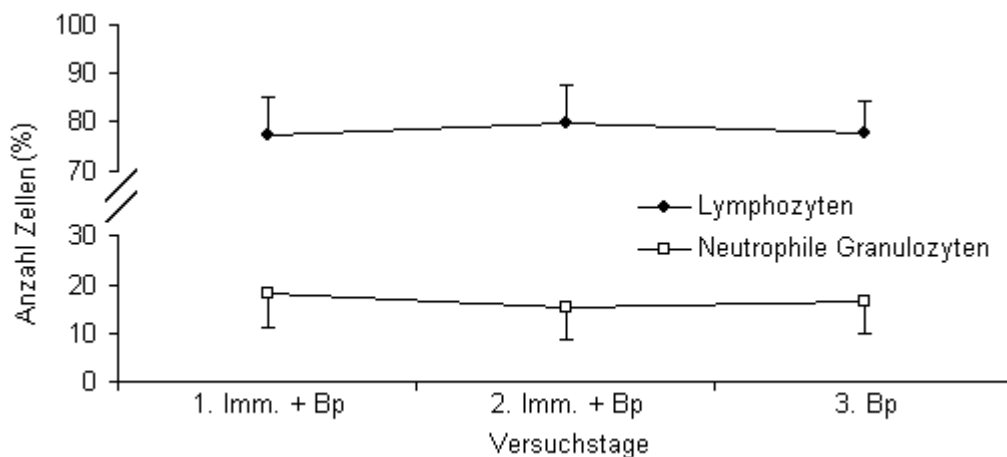


Abbildung 3.3.14: Anzahl der Lymphozyten und neutrophile Granulozyten (%-Anteil der Leukozyten)(Mittel \pm SE). (Statistik im Text).

In Tabelle 3.3.5 ist eine signifikante Änderung des Anteil der Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten über den Verlauf des Versuchs dargestellt. Diese Änderung

ist in der folgenden Abbildung 3.3.14 abgebildet. Es fällt auf, daß der Abfall des Anteils der neutrophilen Granulozyten zeitgleich an einen Anstieg des Lymphozyten-Anteils verläuft.

Die bisherigen Ergebnisse (Abschnitt 3.2) haben gezeigt, daß sich die Immunantwort, gemessen als Extinktion, nicht zwischen den reproduzierenden, in der Tragzeit immunisierten Tieren und nicht reproduzierenden Weibchen unterschied. Betrachtet man dagegen die Tiere, die während der Laktation immunisiert wurden, wird deutlich, daß diesen nur eine signifikant geringere Immunantwort ausbildeten. Dabei unterschied sich die Immunantwort der während der Laktation immunisierten ad libitum gefütterten Tiere nicht von der während der Laktation immunisierten, restriktierten Tieren

3.3.4 Diskussion

Konditionelle Parameter

Wie bereits zuvor (Abschnitt 3.2) hat auch bei diesen Versuchsreihen die Immunisierung keinen Einfluß auf die gemessenen konditionellen Parameter in den Versuchstiergruppen. Alle gezeigten Unterschiede sind auf den Reproduktionsstatus der Weibchen (Gewicht, Wachstum und Nahrungsverbrauch der Mütter) oder die Restriktion der Versuchstiere zurückzuführen (Nahrungsverbrauch der Mütter, Geburtsgewicht der Jungtiere).

Auch in diesem Versuch wurde bestätigt, daß die Immunisierung mit der gewählten Dosis KLH keinen negativen Einfluß auf die untersuchten konditionellen Parameter hat. Erkrankungen durch das KLH, die zu Symptomen wie Fieber oder Lethargie führen, die sich negativ auf das Gewicht oder den Nahrungsverbrauch der Tiere auswirken würden, liegen auch hier nicht vor.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen zum Geburtsgewicht der Jungtiere aus Abschnitt 3.2, wo die Jungtiere von während der Tragzeit restriktierten Müttern leichter geboren werden, zeigt sich dieser Unterschied in den beiden neuen Versuchsgruppen (lak i a und lak i r) nicht. Die fehlende Gewichts Differenz bei den Jungtieren ist allerdings durch den veränderten Versuchsablauf in diesen Gruppen begründet. Die Restriktion der Mütter der Gruppe lak i r begann erst zum Zeitpunkt der Geburt der Jungtiere. Während der Tragzeit stand diesen Tieren Futter ad libitum zu Verfügung. Daher besteht kein Unterschied im Geburtsgewicht der Jungtiere aus den Gruppen lak i a und lak i r. Diese Gruppen unterscheiden sich nicht von den anderen Versuchsgruppen, in denen die Mütter ad libitum gefüttert wurden (r i a, r ni a).

Immun/Blut spezifische Parameter

Vergleicht man die von den während der Laktation immunisierten Müttern generierte Immunantwort am Tag der dritten Blutprobe mit der Immunantwort mit den in der Tragzeit oder in einer nicht reproduktiven Phase immunisierten Tiere, so zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Antwort der laktierenden Tiere liegt signifikant unter der Antwort der während der Tragzeit immunisierten Gruppen. Dieser Unterschied bleibt über den gesamten Versuchsablauf bis zur Entnahme der letzten Blutprobe erhalten.

Die bei den während der Tragzeit oder in einer nicht reproduktiven Phase immunisierten Tiere gemessene Extinktion liegt zwischen 0,45 und 0,7; die bei den während der Laktation immunisierten Tieren gemessene Extinktion erreicht im Höchstfall einen Wert von 0,16. Damit bleibt die Immunantwort der laktierenden Tiere konstant unterhalb der Antwort trächtiger Tiere. Die Immunantwort laktierenden Mütter unterscheidet sich nicht signifikant voneinander.

Die Ergebnisse zeigen, daß die während der Laktation immunisierten Mütter nur eine sehr schwache oder sogar keine Immunantwort (4 Weibchen der Gruppe lak i r; siehe Abb. 3.3.8) generieren können. Die Ursachen für die verringerte Immunantwort bei den in der Laktation immunisierten Tieren können im hormonellen oder energetischen Bereich angesiedelt sein.

Die Geburt der Jungtiere bedeutet für die Mutter großen Stress. Es ist bekannt, daß Corticosteroide und andere Stresshormone das Immunsystem negativ beeinflussen. Die Stressantwort unterdrückt kurzfristig einige immunologische Mechanismen, langfristig kann milder soziopositiver Stress jedoch die Immunfunktion unterstützen bzw. positiv beeinflussen (Apanius, 1997). Dies konnte bereits in verschiedenen Studien gezeigt werden.

Hühner, die mit einer hohen Corticosteroidausschüttung auf Stress reagieren, zeigen eine höhere Anfälligkeit für durch Viren ausgelöste Tumore (Gross et al., 1985).

Mäuse, die einem sozialen Stress ausgesetzt waren, sind, im Gegensatz zu einem keinem Stressor ausgesetzten Tiere, nicht mehr in der Lage ein bakterielle Endotoxin abzuwehren (Quan et al., 2001). Die Mortalität der gestressten Tiere aufgrund der Infektion und dem begleitenden endotoxischen Schock stieg deutlich an.

Stefanski et al. (2000) zeigen, daß Ratten, die in eine soziale Konfliktsituation, wie Dominanzkämpfe geraten, eine deutlich verringerte Anzahl an CD4 und CD8 T-zellen aufweisen. In sozialen Konfrontationen subdominante Tiere zeigen eine reduzierte Aktivität der T-Zellen und natürlichen Killerzellen (Stefanski, 2001) und verringerte Mengen an CD4 und CD8 T-Zellen im Blut. Ratten, die in sozialen Konfrontationen unterliegen, zeigen eine höhere Metastase von Tumor Zellen, ihr

Immunsystem ist nicht in der Lage diese abzuwehren (Stefanski et al., 1996; Dawils et al., 2000). Untersuchungen am Wildkaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) (von Holst, 1998; von Holst et al., 1999) und kleinen australischen Marsupialiern (*Antechinus stuartii*) (Bradley et al., 1980) zeigen tiefgreifende negative Auswirkungen auf die verschiedenen Immunfunktionen in Situationen, in denen hohe Aggressionen oder soziale Instabilität vorherrschen.

Bei weiblichen Hausmeerschweinchen sind schon kurz vor der Geburt bis ca. eine Woche danach die Corticosteroide im Blut der Tiere stark erhöht (Gala et al., 1967; Dalle et al., 1976). Diese könnten die Immunantwort, also die Produktion von Antikörpern gegen KLH hemmen. Die erste Immunisierung erfolgte in diesen Versuchsreihen (lak i a und lak i r) am Tag der Geburt der Jungtiere, also zu einem Zeitpunkt an dem der Corticosteroidlevel im Blut der Mutter im Gegensatz zur Tragzeit und zu nicht reproduzierenden Tieren stark erhöht ist (Gala et al., 1967; Dalle et al., 1976). Wirken sich die Corticosteroide negativ auf die Fähigkeit eine Immunantwort zu bilden aus, so wären die Mütter zu diesem Zeitpunkt möglicherweise nicht in der Lage Antikörper gegen KLH auszubilden.

Eine Woche nach der Geburt der Jungtiere erfolgt bei diesen Tieren die zweite Immunisierung. Zu diesem Zeitpunkt ist der Anteil der Corticosteroide im Blut der Mütter jedoch bereits wieder auf das Niveau der Tragzeit und der nicht reproduktiven Phase zurückgegangen und nicht mehr erhöht. Die Corticosteroide können sich also auch nicht mehr auf die Fähigkeit Antikörper zu bilden auswirken, da sowohl nicht reproduzierende als auch trächtige Weibchen in der Lage waren, bei diesem Titer an Corticosteroiden eine Immunantwort auszubilden. Bei den in der Laktation immunisierten Tieren müsste also zumindest ein kurzzeitiger Anstieg der Antikörper in Form einer Primärreaktion gegen KLH nachweisbar sein. In der primären Reaktion werden jedoch hauptsächlich Immunglobuline der Klasse M gebildet. Diese werden mit der in dieser Arbeit angewandten Methodik jedoch nicht erfasst. Daher kann der Einfluss der Corticosteroide, bzw. des Streß auf die Immunantwort der laktierenden Weibchen nicht ausgeschlossen werden.

Eine weitere Ursache für die Herabsetzung der Immunantwort während der Laktation könnte eine energetische Limitierung, also ein „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Reproduktion und Immunsystem, der Tiere sein. Deerenberg et al. (1997) zeigen eine deutlich verringerte Immunantwort bei Zebrafinken, die ihre Brut aufziehen. Die Immunantwort ist umso geringer, je größer die Brut ist. Eine ähnliche Reduktion der Immunantwort zeigen die Autoren für nicht brütende Vögel, die sich ihr Futter erarbeiten mussten. Die Autoren erklären die Herabsetzung der Immunantwort daher mit mangelnder Energieverfügbarkeit für die Aufrechterhaltung des Immunsystems, da die für das Immunsystem vorgesehene Energie in Brut oder

Arbeit investiert wird.

Daß ein hoher Energieumsatz zu einer Herabsetzung des Immunsystems führen kann, konnte auch bei Säugern gezeigt werden. Mäuse, die über längere Zeit hinweg einer körperlichen Anstrengung unterlagen (schwimmen), zeigten eine verringerte Abwehr gegenüber einem Virus (Coxsackie B Virus, Gatmanitan et al, 1970). Die Mortalität der Tiere, die der Anstrengung unterlagen, stieg von 5% auf 50%. Die Virusreplikation im Herzen der Tiere stieg ebenfalls deutlich an.

Affen, die während der Inkubationsphase einer Poliomyelitis körperlich trainiert wurden, zeigten eine stärkere Infektionsrate als nicht trainierende Affen (Levinson et al, 1945). Hochleistungssportler erkrankten signifikant häufiger an Virus- und anderen Infektionen als nicht extensiv Sport betreibende Kontrollpersonen (Weinstein et al., 1973; Morse et al, 1972; Baron et al, 1982).

Während der Reproduktionsphase ist der Energieumsatz von Säugetieren deutlich erhöht. Kirkwood (1983) zeigt für Säugetiere eine Erhöhung des Basalstoffwechsels um das vierfache, Peterson et al. (1990) zeigen eine Erhöhung des BMR um das 6,9fache für einen mausartigen Marsupialier (*Sminthopsis crassicaudata*). Bisher konnte gezeigt werden, daß laktierende Dickhornschafe (*Ovis canadensis*) einen höheren Anteil an Parasiten (Lungenwürmer) im Kot aufweisen als nicht laktierende Tiere (Festa-Bianchet 1989). Dabei leiden Mütter mit männlichen Jungtieren unter stärkerem Befall als Mütter von Weibchen. Weibchen müssen weniger Energie in die Produktion einer Tochter als in die Produktion eines Sohnes investieren. Das weist darauf hin, daß weibliche Dickhornschafe eine Ressourcen- Allokation zugunsten der Reproduktion, aber auf Kosten der Parasiten-Abwehr durchführen.

Bei Ratten wurde gezeigt, daß laktierende Weibchen weniger in der Lage sind eine Infektion mit Parasiten (*Nippostrongylus brasiliensis*) abzuwehren als nicht reproduzierende Tiere (Connan, 1973).

Die Laktation bedeutet für die Hausmeerschweinchenweibchen eine energetisch sehr aufwendige Phase im Lebenslauf. Die Nahrungsaufnahme ist während der Laktation im Vergleich zu nicht reproduzierenden Tieren um 92%, der Basalstoffwechsel um das 3,7fache erhöht (Künkele, 2000b). Die zusätzlich aufgenommene Energie wird hauptsächlich in die Produktion von Milch für die Jungtiere investiert.

In der Laktation produzieren die Mütter für große Würfe etwa ihr eigenes Körpergewicht an Milch (Hille, 1993). Schon zu Beginn der Laktation ist der Energiebedarf der Meerschweinchen Mütter relativ hoch (ca. 50% über dem Energiebedarf eines nicht reproduzierenden Weibchens) und erreicht seinen Höchstwert bereits in der ersten Hälfte der Laktationsphase. Danach nimmt der Energiebedarf und somit auch die Nahrungsaufnahme bis zum Ende der Laktation kontinuierlich ab (Künkele und Trillmich, 1997).

Der Energieumsatz der Tiere ist während der Laktation also deutlich erhöht. Besteht eine Limitierung der Energieaufnahme zum Beispiel bezüglich der Nahrungsverfügbarkeit, der Aufnahmekapazität oder der Verdauungseffizienz der Tiere, so könnte dieses Limit während der Laktation möglicherweise erreicht sein. Die durch die Immunisierung verursachten Kosten könnten dann nicht mehr durch eine Mehraufnahme an Nahrung kompensiert werden. Es würde also tatsächlich ein „trade-off“ von Laktation und Immunsystem um die zur Verfügung stehende Energie entstehen. Dabei würde der Produktion von Milch eine höhere Priorität zugewiesen, was sich negativ auf die Fähigkeit eine Immunantwort zu generieren auswirken würde.

Die Hypothese der zentralen Limitierung beschreibt eine Limitierung des Energieumsatzes durch einen zentralen Faktor, wie zum Beispiel die Aufnahme oder Resorptionskapazität des Darms (Weiner 1992). Daß bei Meerschweinchen möglicherweise eine zentrale Limitierung besteht, zeigt Künkele (2000a). Die Nahrungsaufnahme weiblicher Hausmeerschweinchen während der Laktation unterschied sich in seiner Studie nicht in Abhängigkeit von der Wurfgröße. Weibchen, deren Wurfgröße nach oben hin manipuliert wurde, nahmen nicht mehr Nahrung auf als Weibchen mit reduzierter Wurfgröße. Das könnte dafür sprechen, daß die Weibchen in der Laktation ein Limit bzw. Plateau der Nahrungsaufnahme erreichen. Wird mehr Energie benötigt so muß diese möglicherweise von anderen physiologischen Prozessen alloziert werden und ist für diese dann nicht mehr verfügbar.

In der vorliegenden Arbeit bilden die während der Laktation immunisierten Weibchen fast keine Immunantwort gegen das KLH aus. Sind die Weibchen mit der Energieaufnahme bzw. mit dem Energieumsatz bereits am oberen Limit, so würde dieser Befund für die Hypothese der zentralen Limitierung der Tiere sprechen. Da die aufgenommene Energie für die Produktion von Milch aufgewandt werden muss, so ist es möglich, daß für die Produktion einer Immunreaktion nicht genügend Energie zur Verfügung steht.

Mirjam Kramer zeigt in ihrer Diplomarbeit (2002) jedoch, daß laktierende Weibchen, deren Wurfgröße nach oben manipuliert wurde, unter einer Umgebungstemperatur von 10°C ihre Nahrungsaufnahme aufgrund der erhöhten Thermoregulationskosten erhöhen. Dies spricht gegen eine zentrale Limitierung, da die Tiere offensichtlich ihre Energieaufnahme, bzw. ihren Energieumsatz noch steigern konnten. Das unter Kältebedingungen (10°C) möglicherweise ein „trade-off“ zwischen Immunsystem und Kosten für die Thermoregulation entstehen kann, konnte bei Mäusen gezeigt werden. Unter Kältebedingungen, in denen die Thermoregulationskosten ansteigen, ist die Immunantwort deutlich reduziert (Cichon et al., 2002). Die Tiere sind unter diesen Bedingungen nicht in der Lage eine Immunantwort auszubilden, da sie nicht in der Lage sind die erhöhten Kosten der Thermoregulation aufzubrin-

gen (durch erhöhte Nahrungsaufnahme). Die zur Verfügung stehende Energie muß von den Tieren zwischen den unterschiedlichen physiologischen Prozessen alloziert werden. Diese Allokation fällt in diesem Fall zugunsten der Thermoregulation und nachteilig für die Aufrechterhaltung des Immunsystems aus.

Um eine Immunantwort gegen ein Antigen aufbauen zu können, muss nicht nur Energie, sondern auch verschiedenen Nährstoffe und Moleküle in die Produktion von Zellen und Antikörpern investiert werden. Zu diesen Stoffen gehören Proteine, Glukose und Fette (Lochmiller et al., 2000). Verschiedene Studien zeigen, dass sich nicht nur eine allgemeine Restriktion der Nahrung sondern auch eine Restriktion von speziellen Nährstoffen, wie Proteinen negativ auf die Immunkompetenz auswirken kann (Chandra et al., 1977; Gershwin et al., 1985; Klasing et al., 1991; Cunningham Ruddles, 1993).

Proteine sind nicht nur wichtige Bestandteile der Zellen und Stoffen des Immunsystems, sondern auch der Milch, die die Mütter während der Laktation produzieren. So kann es möglicherweise zu einer Konkurrenzsituation zwischen dem Aufbau einer Immunantwort und der Produktion von Milch kommen. Das Tier muss eine Allokationsentscheidung treffen, da Stoffe die in die Produktion von Milch investiert werden nicht mehr für den Aufbau anderer Stoffe, wie zum Beispiel den Antikörpern des Immunsystems, zur Verfügung stehen. Es ist also möglich, dass es nicht zu einem „trade-off“ von Laktation und Immunsystem um die zur Verfügung stehende Energie, sondern um die zur Verfügung stehenden Proteine kommt.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß laktierende Weibchen im Gegensatz zu trächtigen und nicht reproduzierenden Tieren nur eine stark eingeschränkte Immunantwort gegen das Antigen ausbilden. Die Gründe hierfür liegen möglicherweise im hormonellen oder energetischen Bereich. Aus welchem Grund die Weibchen nicht in der Lage sind eine „normale“ Immunantwort auszubilden, kann nicht abschließend geklärt werden, da weder Messungen der Stoffwechselraten noch der hormonellen Komponenten (Corticosteroide) durchgeführt wurden.

3.4 Effekte der Immunisierung der Mütter auf die Jungtiere

3.4.1 Einleitung

Das Immunsystem der Säugetiere ist bei der Geburt meist noch nicht vollständig ausgebildet (Mogi et al., 1986; deVries et al., 1999; Marshall-Clarke et al., 2000; Neubert et al., 2000). Die Jungtiere weisen gegenüber den erwachsenen Tieren eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber viralen oder bakteriellen Infektionen auf. Die Zellen der natürlichen Immunität (Granulozyten, Monozyten) sind bei der Geburt zwar bereits funktionsfähig, die Zellen der spezifischen Immunität jedoch noch nicht voll ausgereift (Jones et al., 1996; deVries et al., 1999; Marshall-Clarke et al., 2000). Violetta Pilorz zeigt in ihrer Diplomarbeit (2002), daß die Fähigkeit junger Meerschweinchen, eine Immunantwort gegen ein spezifisches Antigen (KLH) auszubilden gegenüber der Immunantwort erwachsener Tiere stark eingeschränkt ist.

Um Infektionen erfolgreich abzuwehren, sind die Jungtiere, bzw. deren Immunsystem auf die Unterstützung durch die Mutter angewiesen. Diese übertragen schon *in Utero* und später über die Milch spezifische Antigene (Immunglobuline der Klasse A, M und G) auf die Jungtiere (Larson et al., 1980; Sheldrake et al., 1985; von Muralt et al., 1986; Pabst et al., 1992; Lundin et al., 1999; Hanson, 2000; van der Zweet et al., 2002). Dabei werden plazental hauptsächlich Immunglobuline der Klasse G (IgG), über die Milch Immunglobuline der Klasse A (IgA) übertragen (Larson et al., 1980; Hanson, 2000).

In diesem Abschnitt werden die Auswirkungen der Immunisierung der Mütter auf die Jungtiere analysiert. Es wird untersucht, ob und in welcher Menge die Mütter aus den unterschiedlichen Versuchsgruppen (Tab. 3.4.1) plazental spezifischen Antikörper (IgG) auf ihre Jungtiere übertragen. Zusätzlich werden die Effekte der Immunisierung und Futterrestriktion auf konditionelle Parameter der Jungtiere, wie Gewicht, Wachstum und Nahrungsverbrauch untersucht.

3.4.2 Methode

In diesem Abschnitt werden konditionelle und immunologische Ergebnisse der Jungtiere der in Tabelle 3.4.1 dargestellten Versuchsgruppen analysiert.

Bei den Versuchstieren handelt es sich um Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) aus der Zucht der Universität Bielefeld. Haltung und Nahrungskonditionen sind in Abschnitt 2.1.1 beschrieben.

Die Mütter dieser Jungtiere wurden wie in Abschnitt 2.2.1 erläutert immunisiert. Die Jungtiere selbst unterlagen keiner Immunisierung oder Nahrungsrestriktion. Bei den Jungtieren wurden täglich Gewicht und Nahrungsaufnahme gemessen. Zusätzlich wurde jeweils am siebten und am 60. Lebenstag eine Blutprobe an der Ohrvene entnommen. Aus diesen Proben wurden jeweils die Leukozytenzahl bestimmt und ein differentielles Blutbild erstellt. Die Methodik dazu ist in Abschnitt 2.2.5 und 2.2.6 dargestellt. Aus jeder Blutprobe wurden die gegen KLH gebildeten Antikörper mit Hilfe des ELISA ermittelt. Der Test ist in Abschnitt 2.2.4 beschrieben.

Tabelle 3.4.1: Versuchsreihen der Mütter (Trag.: Tragzeit Lak.: Laktation; ad lib.: ad libitum; restr.: restriktiert). Die Bezeichnung der Reihen setzt sich aus Reproduktionsstatus (r: Tragzeit; lak: Laktation), der Immunisierung (i: immunisiert; ni: nicht immunisiert) und der Futterkondition (a: ad libitum; r: restriktiert) zusammen. Zahlen in Klammern geben die Stichprobengröße an, bei der alle Parameter gemessen wurden (In Ansatz 1 (siehe Tabelle 2.2) wurden keine Leukozytenzahlen gemessen und kein Diff. Blutbild erstellt.)

Kategorie	Bezeichnung	Repro- duktion	Immuni- sierung	Tag der Immunisierung	Futter- kondition	N
Versuch I	r i a	+	+	Tag 40 Tr.	Ad lib.	16(8)
Versuch I	r i r	+	+	Tag 40 Tr.	Restr.	10
Kontrolle I	r ni a	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Ad lib.	18 (8)
Kontrolle I	r ni r	+	-	NaCl Tag 40 Tr.	Restr.	10
Versuch II	lak i a	+	+	Tag 1 Lak.	Ad lib.	10
Versuch II	lak i r	+	+	Tag 1 Lak.	Restr.	10

Es werden zunächst die konditionellen Parameter der Jungtiere, wie Gewicht und Nahrungsaufnahme, ausgewertet. Daraufhin folgt die Analyse der an Tag 7 und 60 entnommenen Blutproben (Leukozytenzahl, differentielles Blutbild und Antikörper). Die Daten wurden mittels ANOVA ausgewertet. Als unabhängigen Variablen gingen jeweils Immunisierungs- und Futterstatus in die Analyse ein. Beim Gewicht der Weibchen bei Konzeption geht allerdings nur die Versuchsreihe als unabhängige Variable ein, da die Weibchen zu Beginn des Versuchs noch keiner Behandlung (Immunisierung oder Resriktion) unterlagen. Die Mütter, die erst in der Laktation immunisiert wurden (Reihen lak i a und lak i r) gehen als nicht immunisiert in die Analyse ein, da sie zum jeweiligen Meßzeitpunkt (Geburt der Jungtiere) noch nicht immunisiert waren. Die in der Laktation immunisierten und restriktierten Weibchen (lak i r) gingen als ad libitum gefüttert ein, da die Restriktion erst nach dem jeweiligen Meßzeitpunkt, also der Geburt der Jungtiere begann.

3.4.3 Ergebnisse

3.4.3.1 Konditionelle Parameter

Die folgende Tabelle (3.4.2) zeigt Parameter, die die Versuchswelbchen (Mütter) betreffen (Tab. 3.4.1). Bezüglich des Gewichts der Mütter bei der Konzeption ergab sich in der statistischen Analyse ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsgruppen (siehe Tab. 3.4.2). Bei den Parametern Gewicht bei Geburt, Wurfgröße, Mortalität, Geschlechterverhältnis und produzierte Wurfmasse ergaben sich keine statistisch nachweisbaren Unterschiede zwischen den Gruppen (siehe Tab. 3.4.2). Weder Immunisierung noch Futterkondition hatten einen Einfluß auf diese Parameter. Das mittlere Geburtsgewicht der Jungtiere der restriktierten Mütter war signifikant geringer als das Gewicht der Jungtiere von ad libitum gefütterten Mütter (HSD- posthoc Test, $p < 0,001$). Der Immunisierungsstatus der Mutter hatte keinen Einfluß auf diesen Parameter.

Tabelle 3.4.2: Reproduktionsparameter der Mütter. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung. Versuchsreihen wie in Tab. 3.4.1 dargestellt. (unabhängige Variablen: I: Immunisierungsstatus; F: Futterstatus)

	R I A	R I R	R NI A	R NI R	LAK I A	LAK I R	FG			
Anzahl Mütter	N= 16	N= 10	N= 18	N=10	N= 10	N= 10	FG	Fehler	F	p
Anzahl Jungtiere	N= 20	N= 25	N= 21	N=28	N= 29	N= 25	FG	Fehler	F	p
Gewicht MT	609,35	477,22	635,74	529,98	466,07	486,13	5	68	5,80	0,002
Konzeption	± 178,87	±58,87	±111,64	±56,86	±46,29	±84,86				
Gewicht MT	691,81	653,82	716,51	653,35	643,89	652,83	I: 1	70	0,10	0,758
Geburt der Jungtiere	± 71,56	±68,89	±74,31	±56,49	±60,34	±50,86	F: 1	70	3,01	0,087
natürliche	2,62	2,90	2,67	3,20	3,10	2,60	I: 1	70	1,03	0,313
Wurfgröße	±0,81	±0,99	±0,77	±0,63	±0,74	±0,84	F: 1	70	2,72	0,103
Wurfgröße	2,56	2,6	2,50	2,80	2,90	2,50	I: 1	70	0,29	0,591
nach der Geburt	±0,73	±1,08	±0,92	±0,63	±0,74	±0,85	F: 1	70	0,267	0,607
Mortalität	0,06	0,30	0,17	0,40	0,20	0,10	I: 1	70	0,56	0,456
	±0,25	±0,68	±0,38	±0,70	±0,63	±0,32	F: 1	70	3,38	0,070
Sex Ratio	0,37	0,47	0,56	0,52	0,46	0,49	I: 1	70	1,35	0,249
	±0,22	±0,37	±0,38	±0,21	±0,295	±0,36	F: 1	70	0,34	0,561
produzierte	267,51	242,17	282,01	239,29	269,34	247,13	I: 1	70	0,001	0,979
Wurfmasse	±63,45	±65,86	±68,77	±57,34	±41,69	±64,47	F: 1	70	2,77	0,101
mittleres	104,11	86,57	106,89	77,33	89,66	99,36	I: 1	70	3,51	0,065
Geburtsgewicht	±11,94	±12,34	±11,90	±11,93	±10,94	±12,73	F: 1	70	34,23	0,000

Abbildung 3.4.1 zeigt den Gewichtsverlauf der Jungtiere von der Geburt bis zum 60. Lebenstag. Von der Geburt an wurde bis zum 25. Lebenstag täglich das Gewicht der Tiere aufgenommen. Anschließend wurden Mutter und Jungtiere voneinander getrennt (Entwöhnung) und die Jungtiere wurden nur noch alle 10 Tage (Lebenstag 30-60) gewogen. Es sind jeweils die Jungtiere der restriktierten (Gruppen r i r, r ni r, lak i r) und ad libitum gefütterten Mütter (Gruppen r i a, r ni a, lak i a) zu einer Gruppe zusammengefaßt.

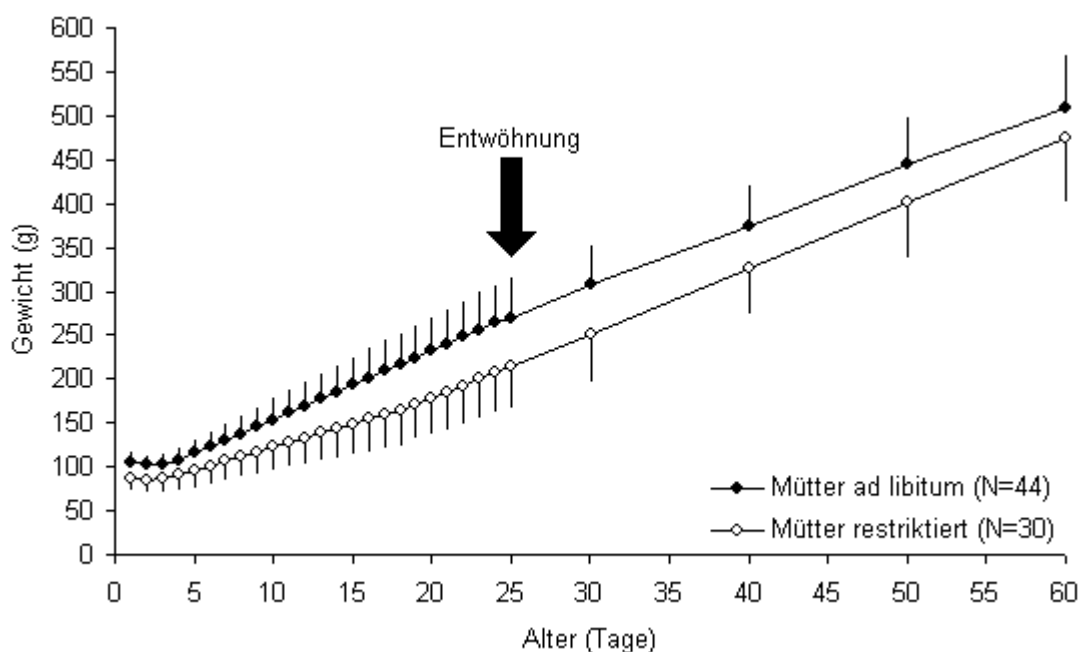


Abbildung 3.4.1: Mittleres Gewicht der Jungtiere von der Geburt bis zum 60. Lebenstag (Mittel \pm SD). Es sind jeweils die Jungtiere restriktierter und adlibitum gefütterter Mütter zusammengefaßt. Über die Würfe wurde jeweils das Wurfmittel gebildet. (Statistik im Text)

In die statistische Analyse der Jungtiergewichte gehen Immunisierungs- und Futterstatus der Mutter als unabhängige Variablen, das Gewicht der Mutter und die tatsächliche Wurfgröße (Überlebende) als Kovariablen ein.

Die Gewichte der Jungtiere unterscheiden sich je nach Futterstatus der Mutter signifikant voneinander (Tabelle 3.4.3). Die Jungtiere der restriktierten Mütter kommen signifikant leichter zur Welt als Jungtiere ad libitum gefütterter Jungtiere (HSD-posthoc Test, $p < 0,001$). Der Unterschied zwischen den Gruppen bleibt bis zum 60. Lebenstag bestehen.

Die folgende Abbildung (3.4.2) zeigt das Wachstum, also die tägliche Gewichtszunahme, der Jungtiere. Das Wachstum der Jungtiere unterscheidet sich signifikant in

Abhängigkeit vom Futterstatus der Mutter voneinander (Tabelle 3.4.3). In die statistische Analyse gehen Immunisierungs- und Futterstatus der Mutter als unabhängige Variablen, das Gewicht der Mutter und die tatsächliche Wurfgröße (Überlebende) als Kovariablen ein. Bis zur Entwöhnung der Tiere (25. Lebenstag) liegt das Wachstum der Jungtiere restriktierter Weibchen unter dem Wachstum der Jungtiere von ad libitum gefütterten Weibchen. Danach scheint kein Unterschied mehr zwischen den Gruppen zu bestehen. Das Wachstum der Tiere ändert sich signifikant über mit zunehmendem Alter (Tabelle 3.4.3).

In Abb. 3.4.2 sind jeweils die Jungtiere restriktierter (Gruppen r i r, r ni r, lak i r) und adlibitum gefütterter Mütter (r i a, r ni a, lak i a) zu einer Gruppe zusammengefaßt

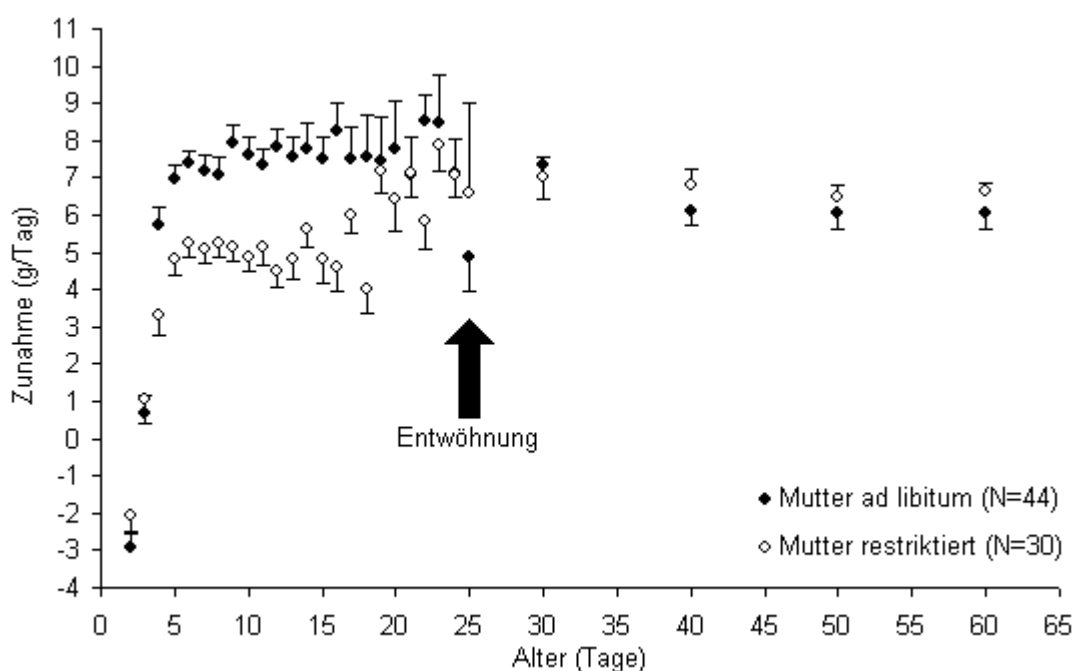


Abbildung 3.4.2: Mittlere tägliche Gewichtszunahme der Jungtiere (Mittel \pm SE). Es sind jeweils die Jungtiere restriktierter und adlibitum gefütterter Mütter zusammengefaßt. Über die Würfe wurde jeweils das Wurfmittel gebildet (Statistik im Text).

Während der ersten 25 Lebenstage wurde die Nahrungsaufnahme der Jungtiere gemessen. Die folgende Abbildung 3.4.3 zeigt die Nahrungsaufnahme der Jungtiere pro Tag pro kg Jungtiermasse. Es sind, wie schon zuvor, jeweils alle Jungtiere der restriktierten und ad libitum gefütterten Weibchen zu einer Gruppe zusammengefasst.

In die statistische Analyse der Nahrungsaufnahme der Jungtiere gehen Immunisierungs- und Futterstatus der Mutter als unabhängige Variablen, das Gewicht der Mutter und die tatsächliche Wurfgröße (Überlebende) als Co-Variablen ein. Es zeigen

sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tiergruppen (Tab. 3.4.3). Weder Immunisierungs- noch Futterstatus der Mutter beeinflussen die Nahrungsaufnahme der Jungtiere. Der Nahrungsbedarf der Jungtiere nimmt mit zunehmendem Alter zu. Das zeigt sich im signifikanten Verlauf der Kurve.

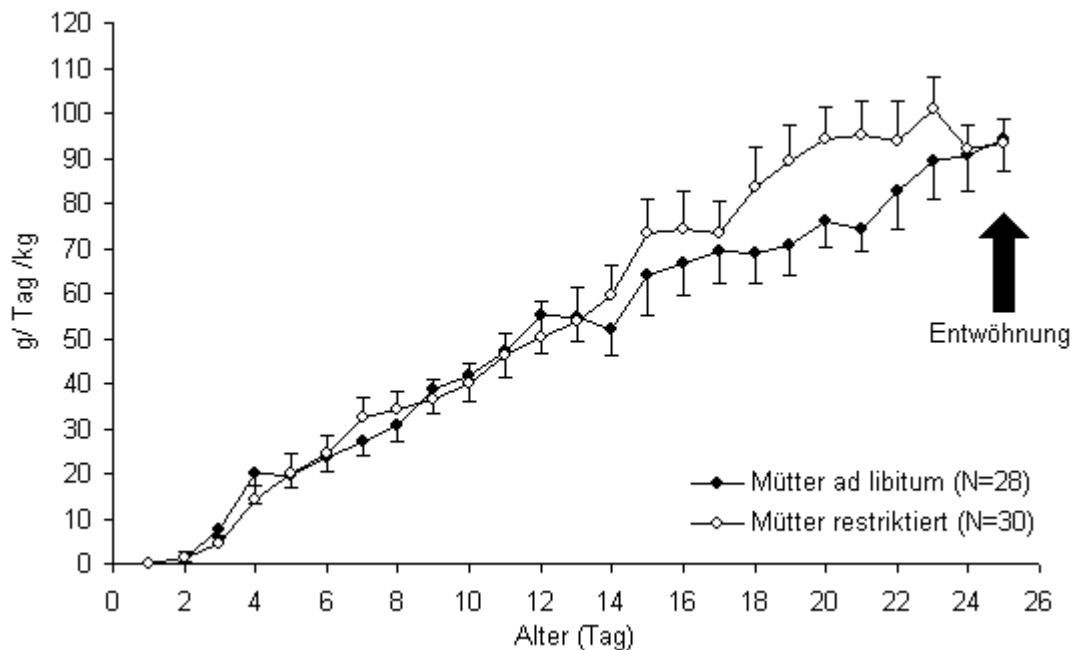


Abbildung 3.4.3: Mittlere Nahrungsaufnahme der Jungtiere (Mittel \pm SE). Es sind jeweils die Jungtiere restriktierter und adlibitum gefütterter Mütter zusammengefaßt. Die Stichprobengröße ist in Tabelle 3.4.3 angegeben. Es wurden jeweils Wurfmittel berechnet (Statistik im Text).

Bisher konnte also gezeigt werden, daß die Immunisierung der Mütter keinen Einfluß auf die untersuchten konditionellen Parameter wie Gewicht, Wachstum und Nahrungsverbrauch der Jungtiere hat. Die Restriktion der Mütter während der Tragzeit wirkt sich negativ auf das Geburtsgewicht und das Wachstum der Jungtiere aus.

Tabelle 3.4.3: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für Konditionsparameter der Jungtiere. Unabhängige Variablen: Immunisierungs- und Futterstatus der Mütter; abhängige Variablen: Versuchstag(e). Int.: Interaktion (nur signifikante Interaktionen angegeben). Für jeden Parameter wurde eine eigene Analyse erstellt.

Parameter	Effekt	FG	FG Fehler	F	p
Gewicht	1.Immunisierung	2	66	1,06	0,351
	2.Futter	1	66	26,68	<0,001
	3.Tage (Verlauf)	28	1904	1893,92	<0,001
	Int. 1. & 3.	28	1904	3,94	<0,001
Wachstum	1.Immunisierung	2	66	0,13	0,881
	2.Futter	1	66	9,32	0,003
	3.Tage (Verlauf)	28	1836	16,96	<0,001
	Int. 1. & 3.	28	1836	1,65	0,002
Nahrungs- aufnahme	1.Immunisierung	2	48	2,47	0,096
	2.Futter	1	48	0,97	0,331
	3.Tage (Verlauf)	24	1200	74,51	<0,001
	Int. 1. & 3.	48	1200	1,42	0,033

3.4.3.2 Immun/Blut spezifische Parameter

Die folgende Abbildung (3.4.4 A) zeigt die im Blutserum der Jungtiere gemessene Extinktion. Jungtiere, deren Mütter während der Tragzeit immunisiert wurden zeigen einen Antikörpertiter (gemessen als Extinktion) in ihrem Blut am 7. Lebenstag. Die Mütter haben also Antikörper auf ihre Jungtiere übertragen. Die bei diesen Jungtieren gemessene Extinktion ist signifikant von der bei Jungtieren nicht immunisierter Mütter oder während der Laktation immunisierter Mütter verschieden. (siehe Tabelle 3.4.4; HSD- posthoc Test, $p < 0,05$). Bei den letzten beiden Gruppen lassen sich keine Antikörper nachweisen, d.h. es wurden keine Antikörper von der Mutter auf die Jungtiere übertragen.

Im Alter von 60 Tagen (Abbildung 3.4.4 B) bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Auch bei den Jungtieren der während der Tragzeit immunisierten Mütter sind keine Antikörper mehr nachweisbar (Tab. 3.4.4).

In Abb. 3.4.4 sind jeweils die Jungtiere aller während der Tragzeit immunisierten Mütter, aller während der Tragzeit mit NaCl behandelten Mütter und in der Laktation immunisierten Weibchen zu einer Gruppe zusammengefasst, da der Futterstatus keinen nachweisbaren Einfluß auf die bei den Jungtieren gemessene Extinktion hat (Tabelle 3.4.4).

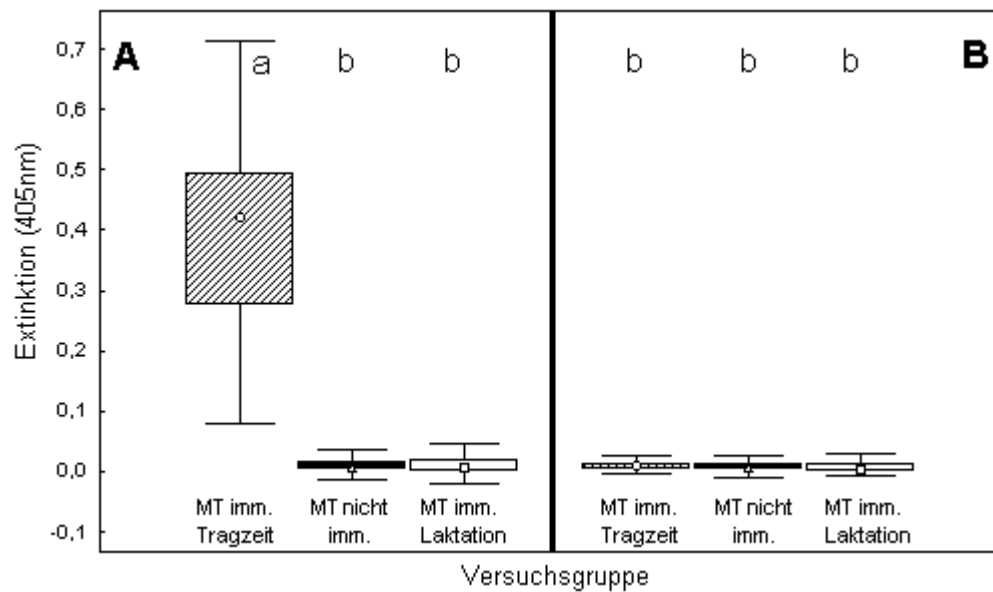


Abbildung 3.4.4: Extinktion der Serumproben der Jungtiere im Alter von 7 (A) und 60 Tagen (B) (Median: Box, 25% 75%: Whisker). Die Stichprobengröße ist in Tabelle 3.4.3 angegeben. Es wurden jeweils Wurfmittel berechnet. (Statistik im Text).

Trägt man die bei den Jungtieren gemessene Extinktion gegen die bei den Müttern zum Zeitpunkt der dritten Blutprobe (Tag -14) gemessenen Werte auf (Abb. 3.4.5), so zeigt sich kein Zusammenhang zwischen den Werten von Mutter und Jungtier (Pearson Korrelation; $N=66$; $r=0,167$; $p=0,180$). Die Menge der übertragenen Antikörper bzw. die gemessene Extinktion der Jungtiere ist also nicht von der Antikörpermenge der Mutter abhängig. In diese Auswertung gehen nur die Jungtiere aus den Versuchsgruppen r i a und r i r ein, da nur diese Tiere nachweislich Antikörper übertragen bekommen haben.

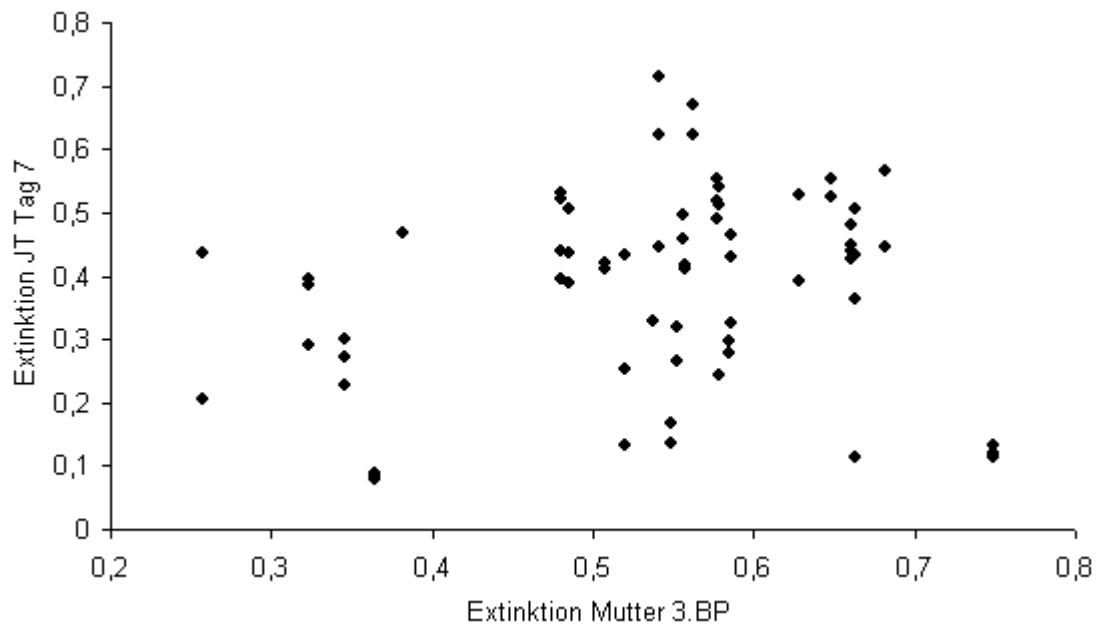


Abbildung 3.4.5: Bei den Jungtieren gemessenen Extinktion gegen die bei den Müttern gemessene. Es gehen nur die einzelnen Jungtiere und ihre Mütter der Reihen r i a und r i r ein (Mütter N=26; Jungtiere N=66. (Statistik im Text).

Die Zählung der Leukozyten ergab weder im Alter von 7 Tagen noch im Alter von 60 Tagen einen Unterschied zwischen den Jungtieren der verschiedenen Versuchsgruppen. Weder Immunisierungs- noch Futterstatus der Mütter wirkt sich auf die Anzahl der Leukozyten im Blut der Jungtiere aus (Tabelle 3.4.4).

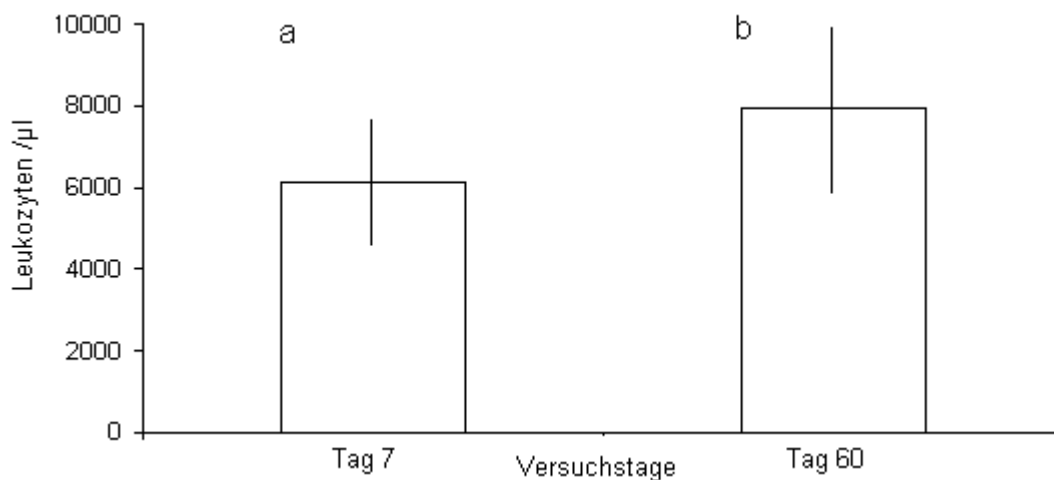


Abbildung 3.4.6: Leukozytenzahlen der einzelnen Jungtiere im Alter von 7 und 60 Tagen (Mittel \pm SD). Die Stichprobengröße ist in Tabelle 3.3.2 angegeben. (Statistik im Text).

Vergleicht man die Leukozytenzahlen aller Jungtiere im Alter von 7 und 60 Tagen, so ergibt sich ein signifikanter Unterschied. Im Alter von 60 Tagen ist die Anzahl der Leukozyten signifikant höher als im Alter von 7 Tagen (Wilcoxon Test für gepaarte Stichproben, $N=148$; $T=1641,5$; $Z=7,34$; $p<0,001$). Dieser Unterschied wird in Abbildung 3.4.6 dargestellt.

Tabelle 3.4.4: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für Blutparameter. Unabhängige Variablen: Immunisierungs- und Futterstatus der Mütter; abhängige Variablen: Versuchstag(e). Für jeden Parameter an beiden Messtagen (7 und 60) wurde eine eigene Analyse erstellt.

Parameter	Effekt	FG	FG Fehler	F	p
Igg	1.Immunisierung	2	187	350,03	<0,001
Tag 7	2.Futter	1	187	0,13	0,719
Igg	1.Immunisierung	2	187	0,59	0,552
Tag 60	2.Futter	1	187	1,73	0,190
Leukozyten	1.Immunisierung	2	142	0,36	0,701
Tag 7	2.Futter	1	142	1,79	0,182
Leukozyten	1.Immunisierung	2	142	1,54	0,218
Tag 60	2.Futter	1	142	0,47	0,493

Die Analyse der Blutaussstriche der Jungtiere im Alter von 7 und 60 Tagen ergab die folgenden Ergebnisse: Auf keinen der ausgezählten Zelltypen (Eosinophile, basophile und neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten und Kurloff Zellen) hat die Immunisierung oder der Futterstatus der Mutter einen Einfluß. Es gibt weder im

Alter von sieben noch von 60 Tagen Unterschiede im Anteil der einzelnen Zelltypen zwischen den Jungtieren der verschiedenen Versuchsgruppen (Tabelle 3.4.6).

Mit zunehmendem Alter gibt es allerdings signifikante Änderungen der Subpopulationen der Leukozytem im Blut der Jungtiere. Der Anteil der Lymphozyten (Abb. 3.4.7 A) ist im Alter von 60 Tagen im Gegensatz zum Alter von 7 Tagen signifikant höher (siehe Abb.3.4.7 und Tabelle 3.4.5). Der Anteil der neutrophilen Granulozyten (Abb. 3.4.7 B) im Blut der Jungtiere dagegen, nimmt mit zunehmendem Alter ab. Der Anteil aller anderen Leukozyten- Subpopulationen (eosinophile und basophile Granulozyten, Monozyten und Kurloff Zellen) ändert sich nicht nachweisbar mit zunehmendem Alter der Jungtiere (Tabelle 3.4.5).

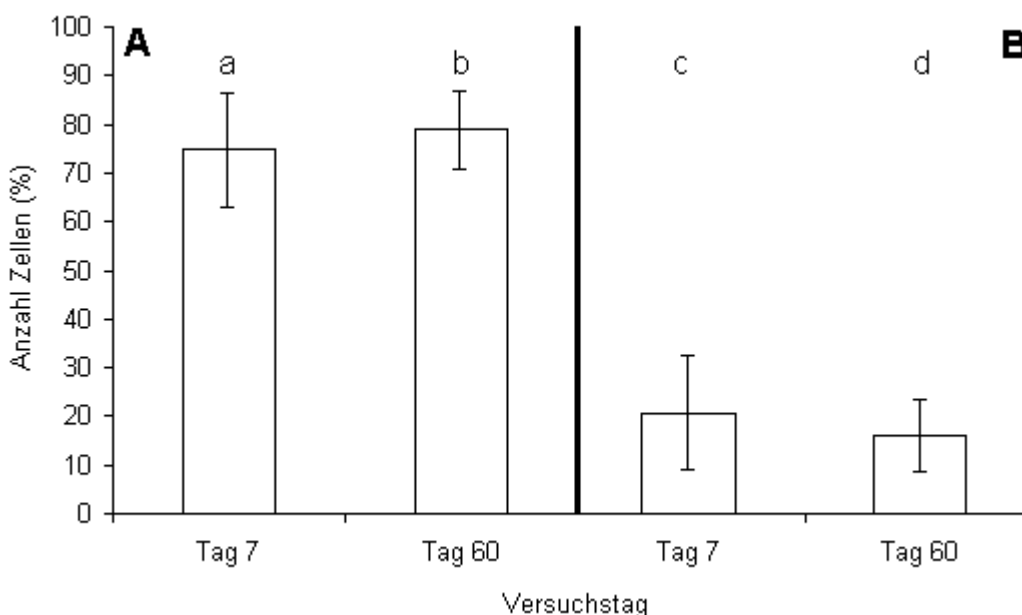


Abbildung 3.4.7: Änderung der Lymphozytenanteile (A) und neutrophiler Granulozyten (B) im Blutbild der einzelnen Jungtiere (Mittel \pm SD). Die Stichprobengröße ist in Tabelle 3.4.3 angegeben (Statistik im Text).

Die Ergebnisse zu den immunologischen Untersuchungen im Blut der Jungtiere zeigen, daß von den während der Tragzeit immunisierten Müttern Antikörper gegen das Antigen KLH auf die Jungtiere übertragen werden. Die Übertragung ist unabhängig vom Futterstatus der Mütter. Mütter, die in der Laktation immunisiert wurden, übertragen keine Antikörper auf ihre Jungtiere.

Das differentielle weiße Blutbild und die Anzahl der Leukozyten ändert sich mit zunehmendem Alter der Jungtiere. Diese Änderung ist unabhängig von Immunisierungs- und Futterstatus der Mütter.

Tabelle 3.4.5: Änderung im Blutbild der Jungtiere mit zunehmendem Alter. Es wird jeweils der siebte mit dem 60. Lebenstag verglichen (Wilcoxon Test für gepaarte Stichproben).

Zelltyp	N	T	Z	p
basophile Granulozyten	148	196	1,02	0,308
eosinophile Granulozyten	148	1658	0,92	0,360
neutrophile Granulozyten	148	3406	3,62	0,0003
Lymphozyten	148	3599,5	3,32	0,0008
Monozyten	148	3059	1,07	0,286
Kurloff Zellen	148	16,5	1,47	0,142

Tabelle 3.4.6: Varianzanalyse des Blutbilds der Jungtiere im Alter von 7 und 60 Tagen. Angegeben sind jeweils Mittelwerte aller Jungtiere und die Standardabweichung. Als unabhängige Variablen gehen Immunisierungs- (I) und Futterstatus (F) der Mütter in die Analyse ein

Zelltyp	Versuchs- tag	Alle JT N=148	FG	FG- Fehler	F	p
basophile Granulozyten	7	0,13	I: 2	142	0,70	0,496
		$\pm 0,41$	F: 1	142	1,17	0,280
	60	0,21	I: 2	142	1,58	0,209
		$\pm 0,65$	F: 1	142	2,46	0,119
eosinophile Granulozyten	7	1,13	I: 2	142	2,66	0,074
		$\pm 0,59$	F: 1	142	1,34	0,250
	60	1,22	I: 2	142	0,46	0,634
		$\pm 0,97$	F: 1	142	0,60	0,439
neutrophile Granulozyten	7	20,82	I: 2	142	0,32	0,724
		$\pm 11,77$	F: 1	142	0,11	0,740
	60	16,16	I: 2	142	0,82	0,441
		$\pm 7,57$	F: 1	142	0,23	0,632
Lymphozyten	7	3,19	I: 2	142	0,64	0,529
		$\pm 1,39$	F: 1	142	0,06	0,805
	60	3,37	I: 2	142	1,06	0,349
		$\pm 1,48$	F: 1	142	0,20	0,654
Monozyten	7	74,70	I: 2	142	1,24	0,294
		$\pm 11,56$	F: 1	142	0,02	0,875
	60	78,95	I: 2	142	0,56	0,571
		$\pm 8,03$	F: 1	142	0,003	0,953
Kurloff Zellen	7	0,02	I: 2	142	0,04	0,958
		$\pm 0,14$	F: 1	142	0,47	0,493
	60	0,06	I: 2	142	1,98	0,142
		$\pm 0,27$	F: 1	142	1,02	0,315

3.4.4 Diskussion

Konditionelle Parameter

Die Immunisierung der Mütter hatte keinen nachweisbaren Einfluß auf die gemessenen konditionellen Parameter wie Gewicht, Wachstum und Nahrungsaufnahme der Jungtiere.

Die bestehenden Unterschiede zwischen den Jungtieren der einzelnen Versuchsgruppen sind auf den Futterstatus der Mütter zurückzuführen. Die Jungtiere restriktierter Weibchen kommen bereits leichter zur Welt. Der Unterschied erhält sich bis zum 60. Lebenstag der Tiere. Die Restriktion der Mütter wirkt sich ebenfalls negativ auf das Wachstum der Jungtiere aus. Bis zur Entwöhnung am 25. Lebenstag wachsen die Jungtiere der restriktierten Weibchen signifikant schlechter als die der ad libitum gefütterten Weibchen. Diese Ergebnisse entsprechen den Erwartungen aus der Literatur. Die negativen Einflüsse der Restriktion auf Gewicht und Wachstum der Jungtiere wurden bereits zuvor beschrieben (Laurien- Kehnen, 2002).

Die negative Auswirkung der mütterlichen Restriktion auf die konditionellen Parameter der Jungtiere sind ein sicheres Anzeichen dafür, daß die Restriktion der Mütter erfolgreich war.

Immun/Blut spezifische Parameter

Die Messung der Antikörper gegen das den Müttern injizierte Antigen KLH fiel bei den Jungtieren der in der Tragzeit immunisierten Müttern positiv aus. Offensichtlich wurden die Antikörper von den Müttern zuvor auf ihre Jungtiere übertragen. Diese Übertragung erfolgt allerdings nur in den Gruppen der während der Tragzeit immunisierten Mütter (r i a u n s r i r). In allen anderen Versuchsgruppen konnte keine Übertragung von Antikörpern stattfinden, da die Mütter entweder nicht immunisiert wurden (r n i a u n d r n i r) oder die Immunisierung erst zu Beginn der Laktation nach der Geburt der Jungtiere stattfand. Dabei hat die Nahrungskondition der Mutter keinen Einfluß auf die Menge der übertragenen Antikörper.

Die Menge der übertragenen Antikörper ist, entgegen den Daten aus der Literatur, nicht abhängig von der Menge der mütterlichen Antikörper. Van der Zweet und Koautoren (2002) zeigen einen derartigen Zusammenhang beim Menschen. Dort ist die auf das Kind übertragene Antikörpermenge abhängig vom Antikörpertiter der Mütter. Kirsten Knudtsen zeigt in ihrer Diplomarbeit (2003) einen derartigen Zusammenhang auch für junge Meerschweinchen.

Mit zunehmendem Alter nimmt der Antikörpertiter im Blut der Jungtiere ab. Im Alter von 60 Tagen sind bei den Jungtieren der während der Tragzeit immunisierten Mütter keine Antikörper gegen KLH mehr nachweisbar. Offensichtlich wurden diese im Laufe des Versuchs abgebaut. Wären die Jungtiere selbst in Kontakt mit dem Antigen gekommen, hätte sich dieser Titer wahrscheinlich über einen längeren Zeitraum erhalten, wie bereits zuvor bei den Müttern gezeigt werden konnte (Abschnitt 3.2 und 3.3).

Zuvor konnte bereits gezeigt werden, daß junge Hausmeerschweinchen selbst in der Lage sind eine spezifische Immunantwort gegen KLH auszubilden (Pilorz, 2002). Diese Immunantwort blieb jedoch um mehr als 50% hinter der Antwort adulter Tiere zurück. Kann bei Adulten eine Extinktion von ca. 0,7 gemessen werden, so lagen die Werte für die Jungtiere im Höchstfall bei 0,3.

In der vorliegenden Arbeit konnte bei den Jungtieren von immunisierten Müttern eine Extinktion von etwa 0,4 gemessen werden. Die von der Mutter übertragenen Antikörper unterstützen das Immunsystem der Jungtiere und ermöglichen diesen eventuell eine bessere Abwehr von Antigenen als die Jungtiere selbst in der Lage wären auszubilden.

Kirsten Knudtsen zeigt in ihrer Arbeit (2003), daß Jungtiere vor und während der Tragzeit immunisierter Mütter zusätzlich nur noch wenige Antikörper gegen KLH ausbilden, wenn sie selbst am 7. Lebenstag immunisiert werden. Diese Jungtiere nutzen also die von der Mutter auf sie übertragenen Antikörper für die Abwehr des Antigens.

In der vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, daß die Mütter eigene Antikörper auf ihre Jungtiere übertragen. Damit unterstützen sie das noch nicht voll ausgebildete Immunsystem ihrer Nachkommen, das wie das anderer Säugetiere auch bei der Geburt vermutlich noch nicht voll ausgebildet ist (Mogi et al., 1986; deVries et al., 1999; Marshall-Clarke et al., 2000; Neubert et al., 2000). Die Jungtiere sind auf die Unterstützung des eigenen Immunsystems durch ihre Mutter angewiesen. Diese überträgt plazental und später über die Milch spezifische Antigene (Immunoglobuline der Klasse A, M und G) auf die Jungtiere (Larson et al., 1980; Sheldrake et al., 1985; von Muralto et al., 1986; Pabst et al., 1992; Lundin et al., 1999; Hanson, 2000; van der Zweet et al., 2002). Dabei werden plazental hauptsächlich IgG, über die Milch IgA übertragen (Larson et al., 1980; Hanson, 2000).

Die in meiner Arbeit nachgewiesene Übertragung von Antikörpern durch die während der Tragzeit immunisierten Mütter auf ihre Jungtiere muss daher *in utero* über die Plazenta erfolgt sein. Die während der Laktation immunisierten Mütter (siehe Abschnitt 3.3) übertragen mit der Milch keine Antikörper der Klasse IgG auf ihre Jungtiere. Dieser Befund kann jedoch nicht ausschließen, daß IgG über die Milch

übertragen wird, da die Mütter dieser Versuchsgruppe selbst nicht bzw. sehr schwach auf die Immunisierung reagieren.

Kirsten Knudtsen zeigt in ihrer Arbeit, daß Meerschweinchenmütter die spezifischen gegen das KLH gebildeten Antikörper (IgG) nur plazental auf die Jungtiere übertragen. Im Blut von Jungtieren, die direkt nach der Geburt zu immunisierten Müttern gesetzt und von diesen auch sofort gesäugt wurden waren keine Immunglobuline der Klasse G gegen KLH nachweisbar.

Unabhängig von der Immunisierung der Mutter ergeben sich für die heranwachsenden Meerschweinchen verschiedene Änderungen im Blutbild.

Zunächst steigt mit zunehmendem Alter die Menge der Leukozyten im Blut der Tiere signifikant an. Im Alter von 60 Tagen ist der Leukozytenanteil mit den Werten der adulten Tiere identisch. Dies entspricht sowohl meinen eigenen Daten zum Blutbild der Tiere (Kapitel 3.1) als auch den Daten aus der Literatur für erwachsene Tiere (Burnett 1904, King et al. 1941, Sawitsky et al. 1948, Innes et al. 1949, Roofe et al. 1950, Bilbey et al. 1955, Constable 1960, Zawisza-Zenkteler 1963, Zemmann et al. 1965, Chan 1965a, Chan 1965b, Burns et al. 1966, Griffiths et al. 1969, Baranski 1971, Sibley et al. 1979, Hawkey 1989a.). Diese Daten sind in Tabelle 3.1.1 aufgetragen und zusammengefasst. Für die Anzahl an Leukozyten bei Jungtieren vor der Entwöhnung sind in der Literatur keine Daten nachgewiesen (siehe auch Tabelle 3.1.1).

Weitere Änderungen im Blutbild der Tiere ergaben sich für Lymphozyten und neutrophile Granulozyten. Der Anteil an Lymphozyten nahm mit zunehmendem Alter der Tiere zu, der Anteil an neutrophilen Granulozyten dagegen ab. Die Werte für die 60 Tage alten Tiere liegen bei den Lymphozyten deutlich höher als in der Literatur beschrieben, die Anteile der neutrophilen Granulozyten im Vergleich zur Literatur deutlich niedriger (siehe Tabelle 3.1.1). Für junge Tiere sind in der Literatur keine Daten zum differentiellen weißen Blutbild aufzufinden (siehe Abschnitt 3.1).

Diese Befunde weisen, wie auch schon in Kapitel 3.1 beschrieben, daraufhin, daß in zukünftigen Untersuchungen, die das weiße Blutbild betreffen auf jeden Fall das Alter der Tiere einbezogen werden muß, da sich die Werte von Jungtieren in mehreren Parametern von den bei adulten Tieren gemessenen Werten unterscheiden.

Kapitel 4

Synthese

Die Ergebnisse aus den Daten zum Blutbild des Meerschweinchens (Kapitel 3.1) zeigen gravierende Unterschiede im Blutbild in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Die Jungtiere zeigen einen signifikant höheren Anteil an Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit als adulte Tiere. Es gibt innerhalb dieser drei Parameter einen signifikanten Alterseffekt.

Es zeigt sich, daß in zukünftigen Untersuchungen auf jeden Fall das Alter der Tiere einbezogen werden muß. Bei den Weibchen sollte ebenfalls der Reproduktionsstatus aufgrund des vermehrten Aufkommens der sogenannten Kurloff Zellen im weißen Blutbild der Tiere berücksichtigt werden. Um abschließend Effekte des Geschlechts auf verschiedene Parameter, besonders im weißen Blutbild, ausschließen zu können, sollte hierzu eine größere Anzahl an Tieren, untersucht werden.

Die Ergebnisse zur Immunisierung zeigen folgendes Bild: Während der Tragzeit ist die Fähigkeit der Mütter eine Immunantwort gegen KLH zu generieren nicht eingeschränkt. Die von ihnen gezeigte Antwort entspricht der Antwort, die nicht reproduzierende Tiere generieren. Anscheinend besteht zu diesem Zeitpunkt kein „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen Reproduktion und dem Immunsystem. Obwohl die Weibchen eine größere Menge, etwa 40% des eigenen Gewichtes, an Jungtiermasse aufbauen, wirkt sich die Energieinvestition nicht negativ auf das Immunsystem aus. Die Weibchen sind in der Lage den Mehrbedarf an Energie während der Tragzeit zu kompensieren. Es besteht anscheinend keine Limitierung.

Eine künstliche Limitierung wurde mit Hilfe der Nahrungsrestriktion erreicht. Die Restriktion führt zu einer geringeren Jungtiermasse, die von den Müttern produziert wird. Zusätzlich verläuft die Immunantwort der restriktierten Tiere sowohl bei reproduzierenden als auch bei trächtigen Tieren jeweils unterhalb der von ad libitum gefütterten Tieren generierten Antwort. Die Nahrungsrestriktion beeinflusst

also sowohl konditionelle wie auch immunologische Parameter der Tiere, wobei die Immunantwort bei reproduzierenden und nicht reproduzierenden Tieren gleich stark herabgesetzt wird. Eine stärkere Restriktion hätte vermutlich auch einen stärkeren Einfluß auf die Immunantwort der Tiere, würde bei den reproduzierenden Tieren jedoch zu starken Einbußen im Fortpflanzungserfolg führen (Wagner, 1996).

Die Herabsetzung der Immunantwort der restriktierten Tiere im Gegensatz zu *ad libitum* gefütterten Tieren macht deutlich, daß die Immunantwort mit Kosten für das Tier verbunden sind. Um die Kosten der Immunantwort genauer bestimmen zu können sollte in weiteren Versuchen zusätzlich der Ruhestoffwechsel der Tiere gemessen werden. Es konnte bereits gezeigt werden, daß Infektionen, bzw. die damit verbundene Immunantwort, zum Teil hohe Kosten für das infizierte Individuum haben. Beim Menschen wurde gezeigt, daß eine Sepsis zu einer Erhöhung des Ruhestoffwechsels um 30% (Kreymann et al. 1993; Carlson et al., 1997). Eine Entzündungsreaktion ruft bei Ratten eine Erhöhung des Ruhestoffwechsels um 28% hervor (Cooper et al., 1994). Bei Schafen kann die Injektion eines Endotoxins zu einer Stoffwechselerhöhung von 10 bis 49% führen (Fewell et al., 1991; Baracos et al., 1987).

Zu einer Erhöhung der Kosten der Immunantwort wäre es auch möglich ein stärkeres Antigen einzusetzen, das nicht, wie KLH, nur zu einer von Antikörper- Reaktion führt, sondern auch schwerwiegendere Folgen für die Tiere, wie zum Beispiel eine Erkrankung (z.B. Fieber), mit sich bringt. Symptome wie Fieber oder Lethargie würden sich auf die Nahrungsaufnahme und damit auch auf das Gewicht der Tiere und auch auf ihren Fortpflanzungserfolg auswirken (Lochmiller et al., 2000; Apanius, 1997), da gezeigt werden konnte, daß leichtere Weibchen auch weniger Jungtiermasse produzieren können (Laurien-Kehnen, 2002).

Während der Laktation ist die Energieaufnahme der Tiere, und damit auch der Energieumsatz gegenüber trächtigen und nicht reproduzierenden Weibchen sehr stark erhöht (Künkele, 2000b). Die laktierenden Weibchen produzieren im Vergleich zu trächtigen und nicht reproduzierenden Weibchen nur eine sehr stark verringerte Immunantwort. Anscheinend ist es den laktierenden Müttern nicht mehr möglich eine angemessene Immunantwort zu generieren. Worin der Grund für diese verminderte Immunantwort liegt, kann hier nicht ausreichend geklärt werden. Möglicherweise steht den Tieren tatsächlich nicht genug Energie zur Verfügung um gleichzeitig eine Immunantwort und nahezu ihr eigenes Gewicht an Milch für ihre Jungtiere zu produzieren. Die vermehrte Nahrungsaufnahme während der Laktation, bzw. die damit aufgenommene Energie wird in die Produktion der Milch investiert. Es besteht also möglicherweise ein „trade-off“ der verfügbaren Energie zwischen der Produktion von Milch und dem Immunsystem. Dieses wird durch die Tatsache bestätigt, daß die restriktierten, während der Laktation immunisierten Tiere eine geringere Immu-

antwort zeigen als die ad libitum gefütterten Tiere.

Möglicherweise besteht zwischen der Produktion von Milch und dem Aufbau von Antigenen kein „trade-off“ um die zur Verfügung stehende Energie, sondern um die verfügbaren Proteine, die für den Aufbau von Milch und Antikörpern benötigt werden. Verschiedene Studien zeigen, daß sich nicht nur eine allgemeine Restriktion der Nahrung, sondern auch eine Restriktion von speziellen Nährstoffen wie Proteinen, negativ auf die Immunkompetenz auswirken kann (Chandra et al., 1977; Gershwin et al., 1985; Klasing et al., 1991; Cunningham-Ruddles, 1993).

Eine weitere Möglichkeit zur Erklärung der verringerten Immunantwort aller während der Laktation immunisierten Tiere ist die Einwirkung von Streß auf das Immunsystem. Stresshormone wie die verschiedenen Corticosteroide, wirken sich nachweislich negativ auf die Immunkompetenz eines Organismus aus (Stefanski et al., 1996; Apanius, 1997; von Holst, 1998; von Holst et al., 1999; Dawils et al., 2000).

Bei weiblichen Hausmeerschweinchen sind schon kurz vor der Geburt bis ca. eine Woche danach die Corticosteroide im Blut der Tiere stark erhöht (Gala et al., 1967; Dalle et al., 1976). Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß diese möglicherweise die Immunantwort, also die Produktion von Antikörpern gegen KLH hemmen. In weiteren Versuchen sollte zusätzlich zu den Antikörpern auch die Corticosteroide im Blut der Weibchen bestimmt werden. Wenn die Antikörperproduktion durch Corticosteroide gehemmt wird, wäre in diesem Fall eine negative Korrelation zwischen dem Titer der Antigene und der Corticosteroide zu erwarten.

Zur Klärung dieser Zusammenhänge wäre es ebenfalls sinnvoll, die primäre Immunisierung zu einem anderen Zeitpunkt der Laktation, zum Beispiel an Tag 7 durchzuführen. Zu diesem Zeitpunkt sind die Stresshormone der Weibchen bereits wieder auf einen etwa mit der Mitte der Tragzeit identischen Level gefallen. Mit diesem Anteil von Corticosteroiden sind die Weibchen definitiv in der Lage eine Immunantwort zu generieren. Sollte die Immunantwort zu diesem Zeitpunkt, der etwa dem Peak der Laktation entspricht, ebenfalls nur eine verminderte Immunantwort aufweisen, so würde dieser Befund gegen eine Beeinflussung der Immunantwort durch Corticosteroide und für einen „trade-off“ um Ressourcen sprechen. Dann müsste noch geklärt werden um welche Ressourcen (Energie oder Proteine) es sich dabei handelt.

Die Daten zeigen, daß von der immunisierten Mutter Antikörper auf die Jungtiere übertragen wurden. Damit unterstützen die Mütter das noch nicht voll ausgebildete Immunsystem ihrer Jungtiere und erhöhen damit im Normalfall die Überlebenschance ihrer Jungtiere und damit natürlich auch ihren eigenen Fortpflanzungserfolg.

Die Jungtiere sind auf die Hilfe der Mutter angewiesen, da sie selbst noch nicht in der Lage sind Antigene adäquat abzuwehren. Die Immunreaktion, die sie selbst ausbilden können, bleibt deutlich hinter der Reaktion adulter Tiere zurück (Pilorz, 2002;

Knudtsen, 2003). Besitzen die Jungtiere Antikörper ihrer Mütter, sind sie in der Lage die eindringenden Antigene effizienter und schneller abzuwehren. Daß dies der Fall, ist zeigt Knudtsen (2003). In dieser Arbeit wurde auch untersucht, ob nach der Geburt Antikörper mit der Milch auf die Jungtiere übertragen wurden. Knudtsen zeigt, daß Meerschweinchenmütter die spezifischen gegen das KLH gebildeten Antikörper (IgG) nur plazental auf die Jungtiere übertragen. Im Blut von Jungtieren, die direkt nach der Geburt zu immunisierten Müttern gesetzt und von diesen auch sofort gesäugt wurden waren keine Immunglobuline der Klasse G gegen KLH nachweisbar. Um allerdings eine Übertragung von Antikörpern anderer Immunoglobulin-Klassen (IgA, IgM) über die Milch vollständig ausschließen zu können, müsste das Colostrum, bzw. die Milch auf ihren Gehalt an Antikörpern untersucht werden.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Fähigkeit, eine Immunantwort auszubilden, bei trächtigen Weibchen im Gegensatz zu nicht reproduzierenden Tieren nicht eingeschränkt ist. Mütter übertragen Antikörper plazental auf ihre Jungtiere um deren Immunsystem zu unterstützen. Laktierende Weibchen bilden im Gegensatz dazu nur eine stark eingeschränkte Immunantwort gegen das injizierte Antigen aus. Aus welchem Grund die Weibchen nicht in der Lage sind eine „normale“ Immunantwort auszubilden, kann nicht abschließend geklärt werden, da weder Messungen der Stoffwechselraten noch der hormonellen Komponenten (Corticosteroide) durchgeführt wurden.

Es bleibt der erstaunliche Befund eines funktionellen „trade-off“ im Laktationsstadium, der -wie auch immer verursacht- zu erheblichen Kosten der Fortpflanzung für die Mütter führen kann. Ein solcher „trade-off“ konnte in dieser Arbeit erstmalig für Säugetiere nachgewiesen werden.

Kapitel 5

Literatur

A

Acton, HW.; Knowles, R. 1914: The nature of the Kurloff Body: A stage in the development of the eosinophile leucocyte. Ind Jour. Med. Res. 1: 523-540

Acton, HW.; Knowles, R. 1913: A note on Kurloff Bodies. Indian Journal of medical research 1: 206-220

Apanius, V. 1997: Stress and Immune defense. Adv. Stud. Behav. 27: 133-153

Apanius, V. 1991: Blood parasitism, immunity and reproduction in the american kestrel (*Falco sparverius*). Ph. D. Dissertation, Univ. of Pennsylvania

Asdell, SA. 1964: Patterns of mammalian reproduction. 2nd Ed. Cornell Univ. Press:386-400

B

Baranski, S. 1971: Effect of chronic microwave irradiation on the blood forming system of guinea pigs and rabbits. Aerosp. Med.: 1196-1199

Baumann, R.; Bauer, C; Bartels, H. 1971: Influence of chronic and acute hypoxia on oxygen affinity and red cell 2,3diphosphoglycerate of rats and guinea pigs. Resp. Physiol. 11: 135-144

Baracos, VE., Whitmore, WT. 1987: The metabolic cost of fever. Can J Physiol Pharmacol 65(6): 1248-54

Bar-Ilan, A.; Marder, J. 1980: Acid base status in unanesthetized unrestrained guinea pigs. Pfluegers Arch. 384: 93-97

- Baron, RC.; Hatch, MH. 1982: Aseptic meningitis among members of a high school football team. An outbreak associated with echovirus 16 infection. *Jama* 248 14: 1724-7
- Bartlett, JA; Schleiffer, SJ; Demetrikopolus, MK; Delany, BR; Shiflett, SC, Keller, SE 1998: Immune Function in Healthy Adolescents. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 5 (1): 105-113
- Bilbey, DLJ.; Nicol, T. 1955: Normal Blood picture of the guinea pig. *Nature* 176: 1218
- Borel, MJ; Bukowski, MS.; Turner, EA 1998: Alterations in basal nutrient metabolism increase resting energy expenditure in sickle cell disease. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 274: E357-E364
- Boxwell, J., P. Ayson 1995: Growth and metabolic parameters in pups of undernourished lactating rats. *Physiol Behav* 57 3: 469-75
- Bradley, AJ.; Mc Danald, IR; Lee, AK. 1980: Stress and mortality in a small marsupial (*Antechinus stuartii*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 8: 331-335
- Bronson, FH. 1989: *Mammalian Reproductive Biology*. Univ. of Chicago Press
- Burnett, SH. 1904: A study of the blood of normal guinea pigs. *J. Med. Res.* 11: 537-551
- Burns, KF.; DeLannoy, CW 1966: Compendium of normal blood values of laboratory animals, with indications of variations I.: random sexed populations of small animals. *Tox. and Appl. Pharm.* 8:429-437
- Byers, JA.; Moodie, JD 1990: Sex-specific maternal investment in pronghorn and the question of a limit on differential provisioning in ungulates. *Behav. Ecol. Soci.* 26:157-164
- C
- Carlson, GL.; Grey, P.; Arnold, J. 1997: Thermogenic hormonal and metabolic effects of intravenous glucose infusion in human sepsis. *Brit. J. Surg.* 84 : 1454-1459
- Chan, ST. 1965a: Quantitative changes in the basophil cells of guinea pig bone marrow following the administration of *Ascaris* body fluid. *Immunology* 8: 566-577
- Chan, ST. 1965b: Quantitative changes in the basophil cells of guinea pig bone marrow following the administration of desiccated *Ascaris* ova. *Immunology* 14: 99-106
- Chandra, RK.; Newberne, PM. 1977: *Nutrition, Immunity and Infection*. Plenum Press, New York
- Chen, H-Q; Zhong, GH; Liang, L; Wang, X-Y; Zhou, T; Chen, ZY (1991): Effects of gender and age on thixotropic properties of whole blood from healthy adult subjects. *Biorheology*, 28: 177-183

- Cichon, M. Chadzinska, M. Ksiazek, A. Konarzewski, M 2002: Delayed effects of cold stress on immune response in laboratory mice. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269 :1493-1497
- Clutton-Brock, TH. 1989: Reproductive success : studies of individual variation in contrasting breeding systems. Univ. of Chicago Press, Chicago
- Connan, RM. 1973: The immune response of the lactating rat to *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunology* 25 2: 261-7
- Constable, BJ. 1960: The blood picture in the guinea pig in acute and chronic scurvy. *Brit. J. Nutr.* 14: 259-268
- Constable, BJ. 1963: changes in blood volume and blood picture during the life of the rat and guinea pig from birth to maturity. *J. Physiol.* 167: 229-238
- Cooper, A L.; Brouwer, S. 1994: Tumor necrosis factor-alpha and fever after peripheral inflammation in the rat. *Am J Physiol* 267: R1431-R1436
- Cunningham- Ruddles, S 1993: Nutrient modulation of the immune response. Decker, New York
- Curtis, JE.; Hersh, EM.; Harris, JE.; McBride, C.; Freireich, EJ. 1970: The human primary immune response to keyhole limpet haemocyanin: interrelationships of delayed hypersensitivity, antibody response and in vitro blast transformation. *Clin. Exp. Immunol.* 6 (4): 473-491
- Curtis, JE.; Hersh, EM.; Butler, WT.; Rossen, RD. 1971: Antigen dose in the human immune response. Dose-relationships in the human immune response to Keyhole limpet hemocyanin. *J Lab Clin Med* 78: 61-69
- D
- Dalle, M; Delost, P. 1976: Plasma and adrenal Cortisol concentrations in foetal, newborn and mother guinea pigs during the prenatal period. *J. Endocrin.* 70: 207-214
- Dawils, L.; Stefanski, V. 2000: Effects of acute and chronic social confrontations on tumor metastasis in laboratory rats. *Zoology* 103: 25
- Dean, MF.; Muir, H. 1970: the characterisation of a protein- polysaccharide isolated from Kurloff cells of the guinea pig. *Biochem. Jour.* 118: 783-790
- Deerenberg, C.; Apanius, V. 1997: Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proc Roy Soc Lond B* 264: 1021-1029
- Demas, GE.; Chefer, V.; Talan, MI.; Nelson, RJ. 1997: Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged mouse. *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.* 273: R1631-R1637

deVries, E.; deGroot, R.; deBruin-Verseeg, S.; Comans-Bitter, WM.; van Dongen, JJM. 1999: Analysing the developing lymphocyte system of neonates and infants. Eur. J. Pediatr. 158: 611-617

Dineen, JK.; Adams, DB. 1970: The effect of long-term lymphatic drainage on the lympho-myeloid system in the guinea-pig. Immunology 19(1): 11-30

Dixon, FJ.; Jacot- Gullarmond, H.; McConahey, PJ. 1966: The antibody response of rabbits and rats to hemocyanin. J. Immun. 97: 350-355

Duplan, JF. 1954: Action d'une irradiation unique et totale de tout le corps sur les leucocytes a corps de Kurloff du sag peripherique du cobaye. Compt. Rend. Soc. Biol., 148: 974-975

E

Ebihara, S.; Mark, T.; Hudson, DJ.; Menake, M. 1986: Genetic control of melantonin synthesis in the pinneal gland of the mouse. Science 231: 491-492

Ederstrom, HE. 1949: Comparison of RBC counts in central and peripheral blood in various laboratory animals. Proc. Soc. Exp. Biol. NY 70: 172-173

Ehrlich, P.; Lazarus, A. 1901: Die Anaemie, Nothnagels Specielle Pathologie und Therapie viii: 56

Engels, M.; Gelderblom H. 1983: Goat herpesviruses: biological and physicochemical properties. J Gen Virol 64 Pt 10: 2237-47

F

Festa- Bianchet, MJ. 1989: Individual differences, parasites, and the cost of reproduction for bighorn ewes (*Ovis canadensis*). J. Anim. Ecol. 58:785-795

Fewell, JE; Ricciutti, F.; Kondo, CS.; Dascalu V. 1991: Fever in young lambs: temperature, metabolic and cardiorespiratory responses to a small dose of bacterial pyrogen. J. Dev. Physiol. 15: 229-235

Foa, PU.; Carbone, T. 1889:Beitraege zur Histologie und Physiopathologie der Milz der Sugethiere. Bietr. Path. Anat. 5: 227-252

Frey, J 1937: Appearance of Kurloff cells in azoimide poisoning. Haemat. 18: 493-497

Fullerton, C.; Berryman, JC.; Porter, RH. 1974: On the nature of mother- infant interactions in the guinea pig. Behavior 48: 145-156

G

- Gala, RR.; Westphal, U. 1967: Corticosteroid-binding activity in serum of mouse, rabbit and guinea pig during pregnancy and lactation: possible involvement in the initiation of lactation. *Acta Endocrinol.* 55: 47-61
- Gatmaitan, BG.; Chason, JL.; Lerner, AM. 1970: Augmentation of the virulence of murine coxsackie-virus B-3 myocardiopathy by exercise *J. Exp. Med.* 131: 1121-1136
- Gershwin, ME.; Beach, RS.; Hurley, LS. 1985: *Nutrition and Immunity*. Academic Press, Orlando, Florida
- Gittleman, JL.; Thompson, SD. 1988: Introduction to the symposium: Energetics and animal behavior. *Am. Zoo.* 28: 813-814
- Glazier, DS. 1990: Reproductive efficiency and the timing of gestation and lactation in rodents. *Am. Nat.* 135: 269-277
- Gomendio, M.; Cassinello, J.; Smith, MW.; Bateson, P. 1995: Maternal state affects intestinal changes of rat pups at weaning. *Behav. Ecol. Socio.* 37: 71-80
- Gordon, MS. 1982: *Animal Physiology: Principles and adaptations*. MacMillan Publ. Co., Inc. New York
- Griffiths, DA.; Rieke, WO. 1969: A comparison of quantitative hematological values in two strains of guinea pigs. *Exp. Hematol.* 18: 36-39
- Gross, WB. ; Siegel, PB. 1985. Selective breeding of chickens for corticosterone response to social stress. *Poult Sci* 64(12): 2230-3

H

- Hammond, KA.; Diamond, JM. 1992: An experimental test for the ceiling on sustained metabolic rate in laboratory mice. *Physiol. Zool.* 65: 952-977
- Hanson, La. 2000: The mother offspring dyad and the immune system. *Acta paediatrica* 89: 252-258
- Hanwell, A.; Peaker, M. 1977: Physiological effects of lactation on the mother. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 41: 297-312
- Harris, JR.; Markl, J. 1999: Keyhole limpet hemocyanin (KLH): a biomedical review. *Micron* 30: 597-623
- Hawkey, CM. 1989: *Comparative mammalian haematology*. Whitfriars Press Ltd., London; ISBN: 0-433-13390-2
- Hawkey, CM. 1989: *A colour Atlas of Comparative veterinary haematology*. Wolf Medical Publications Ltd., London; ISBN: 0-7234-0930-7

Herscowitz, HB.; Harold, WW.; Strvtsky, AB. 1972: Immunochemical and immunogenetics properties of a purified Keyhole limpet hemocyanine. *Immunology* 22: 51-61

Hellstroem, KE.; Hellstroem, I.; Brawn, J. 1969: Abrogation of cellular immunity to antigenically foreign mouse embryonic cells by a serum factor. *Nature* 224: 914-915

Hille, P. 1993: Milchproduktion in Abhängigkeit von Wurfgröße und Konkurrenz zwischen den Jungtieren beim Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*). Diplomarbeit, Universität Bielefeld

I

Innes, J.; Innes, EM.; Moore, CV. 1949: The hematologic changes induced in guinea pigs by the prolonged administration of pteroyl glutamic acid antagonists. *Jour. Lab. and Clin. Med.* 34 (7): 883-901

J

Jones, AC.; Burdge, GC. 1996: Ontogeny of circulating leucocytes in the fetal guinea pig. *Biol. Neonate.* 70: 108-115

K

King, ES., Lucas, M. 1941: A study of the blood cells of normal guinea pigs. *Jour. Lab. and Clin. Med.* 26: 1364-1365

Kirkwood, JK 1983: A limit to metabolizable energy intake in mammals and birds. *Comp. Biochem. Physiol.* 75a: 1-3

Klasing, KC.; Johnstone, BJ.; Benson, BN. 1996: Implications of an immune response on growth and nutrient requirements in chicks. In: Recent advances in animal nutrition (eds.: Haresign, W; Cole, DJA.), Butterworth Heinemann, Stoneham, MA:135-146

Knudtsen, K. 2003: Einfluß der Immunisierung weiblicher Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) auf die Immunkompetenz ihrer Jungtiere. Diplomarbeit, Universität Bielefeld

Kramer, M. 2002: Grenzen des Energieaufwands laktierender Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*). Diplomarbeit, Universität Bielefeld

Kreyman, G. ; Grosser, S ; Gottschall, P. 1993 : Oxygen consumption and resting metabolic rate in sepsis, sepsis syndrome and septic shock. *Crit. Care. Med.* 21: 1012-1019

Künkele, J.; Trillmich, F. 1997: Are precocial young cheaper? Lactation Energetics in the Guinea Pig. *Physiological Zoology.* 70: 569-596

Künkele, J. 2000a: Energetics of gestation relative to lactation in precocial rodent, the guinea pig. *J. Zool. Lond.* 250: 533-539

- Künkele, J. 2000b: Effects of litter size on the energetics of reproduction in a highly precocial rodent, the guinea pig. J. Mammol. 81(3): 691-700
- Kunkel, P.; Kunkel ; I. 1964: Beiträage zur Ethologie des Hausmeerschweinchen *Cavia aperea f. porcellus*. Zeitschrift fuer Tierpsychologie. 21: 602-641
- Kurloff, MG. 1889: Blood cells in splenectomized animals after one year of life. Vrach. 10: 515-518 and 538-543

L

- Larson, BL.; Heary, HL.; Devery, JE. 1980: Immunoglobulin Production and Transport by the mammary gland. J. Dairy Sci. 63
- Laurien-Kehnen, C. 2002: Effects of mother, offspring and the enviroment on the lactation in the precocial guinea pig (*Cavia porcellus*). Ph. D. Thesis, Univ. Bielefeld
- Ledingham, JCG. 1940.: Sex hormones and the Foa- kurloff Cell. J. Pathol. Bact. 50: 201-219
- Lee, PY.; Majulf, P.; Gordon, IJ. 1991: Growth, Weaning and maternal investment from a comparative perspective. J. Zool. Lond. 225: 99-114
- Leon, M.; Woodside , B. 1983: Energetic limits on reproduction: maternal food intake. Physiol Behav 30 6: 945-57
- Levinson, SO.; Milzer, A.; Lewin, P. 1945: Effect of fatigue, chilling and mechanical trauma on resistance to experimental poliomyelitis. Am. J. Hyg. 42: 204-213
- Lochmiller, RL.; Deerenberg, C. 2000: Trade-offs in evolutionary ecology: just what is the cost of immunity. Oikos 88: 87-98
- Loudon, A. 1987: Nutritional effects on puberty and lactational infertility in mammals: some interspecies considerations. Proc Nutr Soc 46 2: 203-16
- Lucarelli, G.; Porcellini, A. 1968: Fetal and neonatal erythropoiesis. Ann N Y Acad Sci 149(1): 544-59
- Lundin, BS.; Dahlman-Höglund, A.; Petterson, I.; Dahlgren, UIH.; Hanson, LA.; Telemo, E. 1999: Antibodies given orally in the neonatal period can affect the immune response for two generations: Evidence for active maternal influence on the newborns immune system. J. Immun. 50: 651-656

M

- Marshall-Clarke, S.; Reen, D.; Tasker, L.; Hassan, J. 2000: Neonatal immunity: how well has it grown up? Immunol Today 21: 35-41

- Marshall, AHE.; Swettenham, KV. 1959: The formation of a mucoprotein-sulphated mucopolysaccharide complex in the lymphoid tissue of the pregnant guinea pig. *J. Anat.* 93: 1959
- Marshall, AHE.; Swettenham, KV; Vernon-Roberts, B.; Revell, PA. 1971: Studies on the function of the Kurloff cell. *Int. Arch. Allergy* 40: 137-152
- McFarland, DJ. 1985: *Animal Behaviour*. Pitman Press, Bath
- Millar, JS. 1975: Tactics of energy partitioning in breeding *Peromyscus*. *Can J Zool* 53 7: 967-76
- Mills, PG.; Reed, M. 1971: The onset of first oestrus in the guinea pig and the effects of gonadotrophis and oestradiol in the immature animal. *J. Endocrin.* 50: 329-337
- Moffatt, DJ.; Rosse, C. 1964a: Studies on Hypoxia I. Response of Bone Marrow to Primary Hypoxia. *Acta Anatomica* 58(1-2): 26-36
- Moffatt, DJ.; Rosse, C. 1964b: Studies on Hypoxia II. A Quantitative Study of Changes in Bone Marrow of Guinea Pig During Post-Hypoxic Polycythemia . *Acta Anatomica* 59(1-2): 188-197
- Mogi, G; Kawauchi, H.; Kuronr, Y. 1985: Development of the immune system in children. *Rhinology* 24: 15-24
- Morse, LJ.; Bryan, JA. 1972: The Holy Cross college football team hepatitis outbreak. *Jama* 219(6): 706-8.
- Muir, H.; Marshall, AHE. 1961: Chemistry of a mucopolysaccharide produced by guinea pig lymphocytes. *Nature* 191: 706

N

- Neubert, RT.; Delgado, I.; Webb, JR.; Brauer, M.; Dudenhausen, JW.; Helge, H.; Neubert, D. 2000: Assessing Lymphocyte functions in neonates for revealing abnormal prenatal development of the immune system. *Terat. Carc. Mutag.* 20: 171-193
- Norris, K.; Anwar , M. 1994: Reproductive Effort Influences the Prevalence of Haematozoan Parasites in Great Tits. *Journal of Animal Ecology* 63 3: 601-610

O

- Osmond, DG.; Everett, DB. 1964: Radioautographic Studies of Bone Marrow Lymphocytes in Vivo + in Diffusion Chamber Cultures. *Blood* 23(1): 1-17
- Osmond, DG.; Everett , DB. 1965: Bone Marrow Blood Volume and Total Red Cell Mass of Guinea-Pig as Determined by ⁵⁹Fe-Erythrocyte Dilution and Liquid Nitrogen Freezing. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences* 50(1): 1-14

Ostwald, R.; Shannon, A. 1964: Composition of tissue lipids and anaemia of guinea pigs in response to dietary cholesterol. *Biochem. J.* 91: 146-154

Owens, IPF. 1999: Sexual selection, speciation and imprinting: separating the sheep from the goats. *TREE* 14: 131-132

P

Pabst, HF.; Soady, DW.; Marusyk, RG.; Carson, MM.; Chui, Lwl.; Joffres, Mr.; Grimsrud, KM. 1992: Reduced measles immunity in infants in a well vaccinated population. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 11: 525-529

Perrigo G.; Bronson, FH. 1985: Sex differences in the energy allocation strategies of house mice. *Behav. Ecol. Socio.* 17: 297-302

Perrigo, G. 1990: Food, sex, time and effort in a small mammal: energy allocation strategies for survival and reproduction. *Behav.* 114: 191-205

Peterson, CC.; Nagy, KA.; Diamond, J 1990: Sustained metabolic scope. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 87: 2324-2328

Pilorz, V. 2002: Immunantwort bei juvenilen Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*). Diplomarbeit, Univ. Bielefeld

Q

Quan, N; Avitsar, R.; Stark, JL. ; He, L.; Shah, M.; Caligiuri, M.; Padgett, DA. Marucha, PT.; Sheridan, JF. 2001: Social stress increases the susceptibility to endotoxic shock. *J. Neuroimm.* 115: 36-45

R

Raffel, M 1992: Wachstum und Entwicklung der Jungtiere beim Hausmeerschweinchen unter ad libitum Bedingungen. Diplomarbeit, Universität Bielefeld

Raffel, M 1997: Allokation auf Wachstum und Reproduktion bei weiblichen Hausmeerschweinchen. Ph. D. Thesis, Univ. Bielefeld

Raffel, M.; Trillmich, F. 1996: Energy allocation in reproducing and non reproducing guinea pigs *cavia porcellus*: females and young under ad libitum conditions. *Journal of Zoology, London.* 239: 437-452

Richner, H.; Christe, P 1995: Paternal investment affects prevalence of malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 4: 1192-4

Rivers, JPW.; Crawford, MA. 1974: Maternal nutrition and the sex ratio at birth. *Nature* 252: 297-298

- Robel, GL; Lochmiller, RL; McMurry, ST; Qualls, CW (1996): Enviromental, Age, and Sex Effects on Cotton Rat (*sigmodon hispidus*) Hematology. Journal of Wildlife Diseases, 32(2): 390-394
- Rogowitz, GL, McClure, PA. 1995: Energy export and offspring growth during lactation in cotton rats (*Sigmodon hispidus*). Funct. Ecol. 9: 143-150
- Romeis, B 1989: Mikroskopische Technik ISBN 3-541-11227-1
- Roofe, PG.; Latimer, HB.; Madison, M.; Maffet, M.; Wilkinson, P. 1950: Comparison of peripheral blood with heart blood in guinea pigs. Science 11: 337
- Ross, EH. 1912: The development of a Leucocytozoon of guinea pig. Ann. Trop. Med. Parasit. 6: 169
- Ryan, AF.; Hartman, MT.; Cleveland, PH.; Catanzaro, A. 1982: Humoral and cell-mediated immunity in peripheral blood following introduction of Antigen into the middle ear. Ann. Otol. 91: 70-74
- S
- Sawitsky, A.; Meyer, L. 1948: Bone Marrow of normal guinea pigs. Blood 3: 1050-1054
- Schilling-Torgau, V. 1911: Ueber die feinere Morphologie der Kurloff Krper des Meer-schweinchens und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlussen. Centrab. fur Bacteriologie, Orginale
- Schilling-Torgau, V. 1913: Ueber die feinere Morphologie der Kurloff Krper des Meer-schweinchens und ihre Aehnlichkeit mit Chlamydozoen-Einschlussen II. Centrab. fur Bacteriologie, Orginale 69: 412-434
- Sen, SK; Tribedi, BP. 1954: Experimental studies in eosinophilia. Jour. Ind. Med. Assoc. 23: 432
- Sen, SK; Tribedi, BP. 1955: A critical study of the Kurloff Body in guinea pigs. Ind. Jour. Med. Res. 43: 201-215
- Sheldrake, RF.; Husband, AJ. 1985: Intestinal uptake of intact maternal lymphocytes b. Res. Vet. Sci. 39: 10-15
- Short, RV. 1985: Species differences in reproductive mechanisms. in: Reproduction in mammals (eds. Austin, CR.; Short, RV.) Cambridge University Press: 24-61
- Sibley, YDL.; Hudson, G. 1970: Eosinophil leucocytes and recovery from severe hypoxia. Acte Haemat. 43: 31-39

- Siikamaki, P.; Ratti O. 1997: Association between haematozoan infections and reproduction in the Pied Flycatcher. *Functional Ecology* 11 2: 176-183.
- Smith, V.G.; Leman, AD. 1991: Pig weaning weight and changes in hematology and blood chemistry of sows injected with recombinant porcine somatotropin during lactation. *J Anim Sci* 69 9: 3501-10
- Simmons VP. 1967: Diverse Diseases, globulins, plasma cells, Russel bodies, Foa-kurloff bodies, and the thymus. A unifying concept. *Wis. Med. J.* 66: 349-364 58:318-325
- Smith, E. 1947: Certain Characteristics of guinea pig blood with particular reference to Kurloff body. *Blood Jour. Hematol. Spec. Issue* 1: 125-141
- Smith, E. 1991: The Influence of nutrition and postpartum mating on weaning and subsequent play behavior of hooded rats. *Anim. Behav.* 41: 513-524
- Stearns, SC. 1989: Trade-offs in life history evolution. *Funct. Ecol.* 3: 259-268
- Stefanski, V. 2000 : Social stress in laboratory rats: hormonal responses and immune cell distribution. *Psychoneuroendocrinology* 25(4): 389-406
- Stefanski, V. ; Ben-Eliyahu, S. 1996: Social confrontation and tumor metastasis in rats: defeat and beta-adrenergic mechanisms. *Physiol Behav* 60(1): 277-282
- Stefanski, V. 2001: Social stress in laboratory rats: behavior, immune function, and tumor metastasis. *Physiol Behav* 73(3): 385-91
- Stern, J.; Bronner , G. 1970: . Effects of litter size on nursing time and weight of the young in guinea pigs. *Psychon. Sci.* 21: 171-172
- Swanson, MA.; Schwartz, RS. 1967: Immunosuppressive therapy. The relation between clinical response and immunologic competence. *New Eng. J. Med* 277: 163-170

T

- Theml, H 1991: Taschenatlas der Haematologie. Georg Thieme Verlag
- Trivers, R. 1972: . Parental Investment and Sexual Selection. *Sexual selection and the descent of man* Ed. By. B. Campbell, London: 136-179
- Tuomi, J. ; Hahala, T. ; Haukioja, E. 1983: Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction and selection in life- history evolution. *Amer. Zool.* 23: 25-34

V

- van der Zweet, WC., Vanderbroucke-Grauls, CM.; van Elburg, RM.; Cranendonk, A.; Znaijer, HL. 2002: Neonatal antibody titer against varicella-zoster virus in relation to gestational age, birth weight and maternal titre. *Pediatr.* 109

- von Holst, D. 1998: The concept of stress and its relevance for animal behaviour. Adv. Stud. Behav. 27: 1-131
- von Holst, D.; Hutzelmeyer, H.; Kaetzke, P.; Khaschei, M.; Schönreiter, R. 1999: Social rank, stress, fitness and life expectancy in wild rabbits. Naturwiss. 86: 388-393
- von Muralt, G.; Sidiropoulos, D. 1986: Experiences with intravenous immunoglobulin treatment in neonates and pregnant women. Vox Sang 51: 22-29

W

- Wagner, E.; Manning, P.: The biology of guinea pigs.
- Wagner, K. 1996: Nahrungsrestriktion beim Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) und ihre Auswirkung auf die Fortpflanzung. Diplomarbeit, Universität Bielefeld
- Weigele, WO. 1964: Immunochemical properties of hemocyanin. Immunohistochemistry 1: 295-302
- Weinstein, L. 1973: Poliomyelitis—a persistent problem. N Engl J Med 288(7): 370-2.
- Wintrobe, MM. 1933: Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematol. 51: 32-49
- Weir, BJ 1974: Reproductive Characteristics of hystricomorph Rodents. Symp.Zool.Soc.Lond. 34: 265-301
- Wedekind, C. 1994: Mate choice and maternal selection for specific parasite resistances before; during and after fertilization. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 346 1317: 303-11
- Weiner, J. 1992: Physiological Limits to sustainable energy budgets in birds and mammals: Ecological Implications. TREE 7: 384-388
- Weir, BJ. 1974: . Reproductive Characteristics of hystricomorph Rodents. Symp.Zool.Soc.Lond. 34: 265-301
- Weir, BJ.; Rowlands, W. 1973: Reproductive strategies of mammals. Ann. Rev. Ecol. Syst. 4: 139-163
- Williams, GC. 1966: Adaptation and natural selection. Princeton University Press, Princeton, NJ

Z

- Zamiri, MJ. 1978: Effects of reduced food intake on reproduction in mice. Aust J Biol Sci 31 6: 629-39

Zawisza-Zenkteler, W. 1963: A comparative study of the glycogen content of leukocytes in human beings and in laboratory animals. Arch. Imm. and Ther. Exp. 11: 219-225

Zeman, FJ.; Wilber, CG. 1965: Hematology in the normal guinea pig. Life Sci. 4: 871-883

Zusammenfassung

Besonders im Lebenslauf von Weibchen stellt die Reproduktion eine Phase von hohem Energie und Zeitaufwand dar. Sind die Ressourcen eines Individuums limitiert, muß das Weibchen die zur Verfügung stehende Energie auf die verschiedenen Prozesse des Körpers aufteilen. Diese Prozesse lassen sich in die drei Bereiche Selbsterhalt, Wachstum und Reproduktion aufteilen. Investiert das Tier viel Energie in die Reproduktion, steht ihm diese Energie nicht mehr zur Aufrechterhaltung anderer wichtiger Prozesse zur Verfügung. Eine Allokation zugunsten der Reproduktion führt dann möglicherweise zu einem "trade-off" zwischen Reproduktion und anderen physiologischen Prozessen. In diesem Kontext wird eine verringerte Immunkompetenz als Ergebnis des erhöhten Energiebedarfs während der Reproduktionsphase diskutiert (Apanius V 1997 Adv Stud behav 27). Eine verringerte Immunkompetenz kann zu einem erhöhten Krankheitsrisiko (z.B.: Parasitenbefall) oder auch zu einer erhöhten Mortalität führen.

Weibliche Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) eignen sich besonders gut zur Untersuchung dieser Zusammenhänge, da sie während der Reproduktionsphase eine große Menge zusätzlicher Energie benötigen. Sie produzieren während der Tragzeit etwa die Hälfte des eigenen Körpergewichts an Jungtiermasse, während der Laktationsphase etwa ihr eigenes Gewicht an Milch.

Diese Studie prüft, ob sich der stark erhöhte Energiebedarf von Hausmeerschweinchen-Weibchen während der Reproduktionsphase negativ auf das Immunsystem der Tiere auswirkt.

Um die Auswirkung von Tragzeit und Laktation auf das Immunsystem bei weiblichen Hausmeerschweinchen zu überprüfen, wird während der Tragzeit oder am ersten Tag der Laktation und eine Woche später eine Immunisierung mit Keyhole Limpet Haemocyanin (KLH) durchgeführt. Die gegen diesen Antigen gebildeten Antikörper werden im Blutserum der Tiere bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich eine Immunisierung mit KLH nicht auf konditionelle Parameter der Mütter und Jungtiere auswirkt. Die Immunantwort der während

der Tragzeit immunisierten Mütter unterscheidet sich nicht von der Immunantwort nicht reproduzierender Weibchen. Die Immunantwort der während der Laktation immunisierten Weibchen fällt jedoch signifikant geringer aus als die Immunantwort der trächtigen und nicht reproduzierenden Tiere.

Während der Laktation sind die Tiere also nur in der Lage eine sehr schwache Immunantwort zu generieren. Möglicherweise besteht zu diesem Zeitpunkt der oben beschriebene “trade-off“ zwischen Reproduktion und Immunsystem.

Danksagung

Ich danke Prof. Dr. Fritz Trillmich ganz besonders für seine Unterstützung, persönliche Betreuung und Hilfestellung während der Planung und Durchführung meiner Arbeit.

Dr. Volker Stefanski, seiner Arbeitsgruppe und Christine Müller- Weith in Bayreuth und Jutta Wirth in Bielefeld möchte ich für ihre Unterstützung bei der Entwicklung der Methodik und der Analyse der ersten Blutproben danken.

Ein großes Dankeschön geht an alle Mitarbeiter, Doktoranden und Diplomanden der Arbeitsgruppen Trillmich, Künkele, Witte und Naguib, für ihre Hilfe und die vielen anregenden Diskussionen während der Seminare und Kaffeepausen.

Ein besonderer Dank geht auch an Claudia Laurien- Kehnen und Dr. Joachim Künkele für ihre immerwährende Diskussionsbereitschaft zum Thema Energetik, Kosten des Immunsystems und der Fortpflanzung und Trade-offs im Allgemeinen.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Violetta Pilorz und Kirsten Knudtsen bedanken, die im Rahmen ihrer Diplomarbeiten den Aspekt der Jungtiere näher beleuchtet haben und damit viel zum Verständnis meiner Daten beigetragen haben.

Ulla Rennemann und allen weiteren Tierpflegern am Lehrstuhl danke ich für ihre Unterstützung bei der Pflege und Betreuung der Versuchs- und Zuchttiere.

Ganz großer und herzlicher Dank gilt natürlich meinen Freunden und meiner Familie, die sich andauernd die neusten Meerschweinchen- Geschichten anhören mussten und immer ein offenes Ohr für meine kleinen und großen Probleme hatten. Ich danke meiner Mutter, meiner Omi, Netti und ganz besonders Dora und Daniel Thumann, die sich immer für das was ich mit meinen Schweinen so anstelle interessiert haben.

Für die Unterstützung, das gute Zureden und das Verständnis, das er mir entgegengebracht hat, und für die tatkräftige Hilfe beim Wiegen der Tiere und Reinigen der Boxen an unzähligen Wochenenden möchte ich mich bei meinem Mann Mark bedanken. Ohne Dich hätte ich das nie geschafft. Ich hoffe ich kann mich dafür bald revanchieren. Danke!

für Dieter

Abschlussklärung

Ich versichere, daß ich die vorliegende Dissertation einschließlich aller Darstellungen selbstständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Alle Stellen, die dem Wortlaut oder dem Sinn nach anderen Werken entnommen sind, habe ich in jedem der Fälle unter genauer Angabe der Quelle deutlich als Entlehnung kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde von Oktober 1999 bis Januar 2003 am Lehrstuhl für Verhaltensforschung der Universität Bielefeld im Rahmen des interdisziplinären Graduiertenkollegs Verhaltensstrategien und Verhaltensoptimierung angefertigt.

A handwritten signature in blue ink, reading 'Manuela Jäckel'. The signature is written in a cursive style with a large initial 'M' and a long, sweeping tail on the 'J'.

Manuela Jäckel